

Calcein-AM/PI活细胞死细胞双染试剂盒

目录号：ABC1725

产品简介

Calcein AM是在Calcein（钙黄绿素）的基础上，引入了一个乙酰甲氧基甲酯（AM）基团，AM基团不仅掩盖了Calcein螯合钙的分子部分且增强了其疏水性，因此可以使Calcein AM轻易穿透活细胞膜。当Calcein AM进入细胞后，能够被细胞内源性酯酶剪切为Calcein。失去AM基团后，Calcein不能轻易通过细胞膜，从而被滞留在细胞内；此外螯合钙的分子部分被暴露出来，Calcein探针和细胞内钙离子结合后，能够发出强绿色荧光。而死细胞缺乏酯酶，不能使Calcein AM被水解成能Calcein，故无法标记死细胞。PI（碘化丙啶）能够嵌入细胞的DNA双螺旋从而产生红色荧光，但是不能直接染色活细胞的细胞膜，只能染色细胞膜被破坏的死细胞。因此将Calcein-AM与PI联合使用，可对活细胞和死细胞进行染色标记。

本试剂盒基于上述原理，且经过本司优化和调试，通过Calcein-AM标记活细胞，PI标记死细胞来进行双重染色标记，从而可以对活细胞和死细胞水平分析。

储存与运输

冰袋运输；-20℃避光保存，至少12个月有效。

操作步骤

1. Calcein AM/PI检测工作液配置：

- a) 将低温保存的Calcein-AM试剂、PI试剂、检测缓冲液恢复到室温；
- b) 根据需要配置检测工作液，配置体系可参考下表，注意不同细胞特性不同，实验时可根据实际情况添加或减少探针的使用浓度，大多数细胞稀释比在1：500-2000之间；

10个样品 50个样品 100个样品

Calcein-AM试剂	2 μL	10 μL	20 μL
PI试剂	2 μL	10 μL	20 μL
检测缓冲液	1 mL	5 mL	10 mL

2. 细胞染色标记：

- a) 根据客户实验安排，对细胞进行前药物或其他刺激处理；
- b) 对于贴壁细胞，需要先收集原上清，并使用胰酶消化后收集全部细胞；对于悬浮细胞，直接收集全部细胞；
- c) 将收集的细胞，800-1000 rpm离心3-5 min，去除上清，使用PBS或其他缓冲液充分洗涤细胞2-3次，以去除残留的酯酶活性；
- d) 加入上述Calcein AM/PI检测工作液重悬细胞，使细胞密度控制在 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/mL；
- e) 于细胞培养箱中，避光孵育15-30 min；

3. 细胞染色观察：

- a) 根据实验需求，可使用荧光显微镜、流式细胞仪、酶标仪等仪器对活细胞和死细胞水平进行观察分析；
- b) 其中Calcein-AM标记的活细胞为绿色荧光，EX/EM=494/517 nm；PI标记的死细胞为红色荧光，EX/EM=535/617 nm。



Calcein-AM/PI活细胞死细胞双染试剂盒
目录号：ABC1725

注意事项

1. 由于不同细胞间性质以及不同检测方式不同，步骤中描述的使用探针浓度以及孵育时间范围仅供参考，可根据具体情况进行调整。
2. 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光操作，以减缓荧光淬灭。
3. Calcein-AM对湿度非常敏感，首次使用时，请根据实验安排适当分装。Calcein AM/PI检测工作液请现配现用。
4. 为了您的健康和安​​全，操作时请穿好实验服、戴好手套。

本产品仅供科研用途，不用于临床诊断！
(产品包装升级中，以实物为准。)