

货号：ZC-G1109

规格：100T

Calcein-AM/PI 活细胞/死细胞双染试剂盒说明书

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 CalceinAM 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。

组成

Component Number	Component	ZC-G1109	-100T
1	Calcein -AM 试剂	20	μ L
2	PI 试剂	20	μ L
3	检测缓冲液	10	mL
4	产品说明书		1 份

注意：上述反应次数为单次 100 μ L 体系检测。

操作步骤

1. Calcein AM/PI检测工作液配置：

- 将低温保存的Calcein -AM试剂、PI试剂、检测缓冲液回复到室温;
- 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 μ L	10 μ L	20 μ L
PI 试剂	2 μ L	10 μ L	20 μ L
检测缓冲液	1 mL	5 mL	10 mL



ZCIBIO Technology Co.,Ltd

咨询热线: +86-21-65681082

技术支持: zcibio@163.com

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, 并使用胰酶消化后全部收集细胞; 对于悬浮细胞, 直接全部收集细胞;
- 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, 使细胞密度控制再 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 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。

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, 以减缓荧光猝灭。
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。

