

Calcein Blue, AM 钙黄绿素蓝 (蓝色)

产品信息:

产品名称: Calcein Blue, AM 钙黄绿素蓝 (蓝色)

规格:

目录号	产品名称	规格
X13085	Calcein Blue, AM 钙黄绿素蓝 (蓝色)	1mg

特性说明:

CAS 号	168482-84-6
分子式	C ₂₁ H ₂₃ NO ₁₁
分子量	465.41g/mol
溶解度	Soluble in DMSO
纯度	≥90%
Ex/Em	360/445nm
运输条件	冰袋运输
储存条件	-20°C 避光干燥保存, 有效期 1 年

产品说明:

产品描述:

Calcein Blue, AM 本身仅呈微弱荧光(Ex/Em~322/435nm),具有细胞膜渗透性。一旦进入细胞后,被细胞内酯酶水解为钙黄绿素蓝(Calcein Blue),探针极性增强并能保留在细胞内数小时,此时荧光强度增强且荧光光谱迁移到更长波长(Ex/Em~360/445nm),光谱特征类似于 DAPI. Hoechst 3342 或 Hoechst 33258。

使用说明:

一、储存液制备

储存液配制范围可为 1 ~ 5 mM,具体根据工作浓度来决定,建议提前配制成 1000x 储存液。若使用的工作液为 5μM,那么可配制 5mM 的储存液,即往 1mg CalceinBlue, AM (Mw: 465.41) 内加入 430μl 细胞培养级别的 DMSO,充分溶解,混匀。储存液根据单次用量分装 20°C 保存,避免反复冻融,数月稳定(不要超过 6 个月)。

二、20% Pluronic F-127 制备[可选]

称取 100mg Pluronic F-127 粉末中加入 500μl DMSO,配制成 20%(w/v) DMSO 母液。溶解过程需要在 40- 50°C 加热 20-30min。溶液室温保存,不用冷藏。如有结晶析出,可以重新加热后溶解,不影响使用。

三、染色步骤

大多数实验体系中 Calcein Blue, AM 的工作浓度为 2-5 μ M。由于不同细胞系的最佳染色条件不同,初次实验建议做梯度实验,以确定 Calcein Blue, AM 的最佳工作浓度,以最低的探针浓度得到最好的荧光结果为筛选原则。

1) 取一管适量分装的储存液(1000x) 置于室温,至少回温 20min,低速离心后,用合适的缓冲液如 PBS, HBSS-HEPES 稀释到 1 x 染色工作液。

[注意]:有时可添加一定量的非离子表面活性剂如 Pluronic F127 到 Calcein Blue, AM 储存液内来增强其水溶性。制备染色工作液前,取一管 Calcein Blue, AM 储存液内加入等体积的 20% Pluronic F127,使 Pluronic F127 的终浓度为 0.02%。加入 Pluronic F127 的 Calcein Blue, AM 溶液不可长期保存,需现配现用。

2) 对于贴壁细胞,先用胰酶 EDTA 或 Accutase 消化细胞,离心收集细胞(1000 rpm, 3min)。对于悬浮细胞,直接离心收集细胞。[注意]:贴壁细胞也可进行原位染色。

3) 去上清,用 PBS (或者其他缓冲液)清洗细胞 2~3 次,以充分去除残留的酯酶活性。

4) 用 1/10 细胞培养基体积的 Calcein Blue, AM 染色工作液重悬细胞, 37 $^{\circ}$ C 孵育 20min~1h。

[注意]: 1)若细胞自身含有机阴离子转运体,需加入丙磺舒(1-2.5mM)或者苯磺唑酮(0.1-0.25mM)到孵育体系内以降低去酯化的 Calcein Blue 泄露到胞外;2)降低探针加载温度,可能会减少探针区室化现象。

5) 用 PBS (或者其他缓冲液)洗涤细胞两次去除多余染料。

[注意]:如有必要,使用含有机阴离子转运抑制剂的缓冲液来进行细胞清洗。

6) 用含合适滤光片(Ex/Em= 360/445nm) 的仪器进行检测。

注意事项:

1) 荧光染料均存在淬灭问题,请尽量注意避光,以减缓荧光淬灭。

2) 乙酰氧基甲基酯(AM)易吸潮,冰箱取出后请在干燥的环境放至室温后再开封。由于试剂微量,开封前请将其短暂离心,以保证粉末落入管底。

3) Calcein Blue, AM 对湿度非常敏感,粉末保存一定要保持干燥。Calcein Blue, AM 储存液需要分装避光冻存,且必须紧紧密封盖子,干燥保存。Calcein Blue,AM 工作液必须现配现用。

4) 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅供科研使用,不可用于临床诊断应用或其他用途。