

Calcein AM 细胞活性检测试剂盒 (CCK-F)

货号: PMK1901

保存: -20℃避光保存 12 个月

规格: 100T/500T/2500T

适用样本: 细胞

产品简介

Calcein AM 是在 Calcein (钙黄绿素) 的基础上增加了乙酰氧基甲酯 (AM) 基团, 加强了疏水性, 因此能够很容易穿透活细胞膜, 进入细胞内, 从而标记细胞。Calcein AM 本身并无荧光, 进入细胞后被细胞中内源性酯酶水解生成具有强负电荷的不能通透细胞膜的极性分子钙黄绿素 (Calcein), 从而被滞留在细胞内, 而 Calcein 可发出强绿色荧光。由于死细胞缺乏酯酶, Calcein AM 进入细胞后仅活细胞会被染色为绿色荧光, 所以可对活细胞进行定量荧光检测。与其它同类探针相比, 由于 Calcein AM 的细胞毒性非常低, 几乎不会影响细胞功能如细胞增殖或淋巴细胞的趋化性等, 而且对 pH 值敏感性低, 所以 Calcein AM 是目前活细胞荧光染色的最理想探针之一。近年来 Calcein AM 也被广泛用于细胞活性、细胞毒性或细胞增殖的检测。Calcein AM 细胞活性检测试剂盒是一种通过 Calcein-AM 荧光探针标记活细胞从而简单、快速、灵敏、准确地用于细胞活性、细胞毒性或细胞增殖检测的试剂盒。本试剂盒由于能用于活细胞的精确定量, 也被称为细胞荧光计数试剂盒 (Cell Fluorescence Counting Kit), 简称 Cell Fluorescence Counting Kit-F、CCK-F 或 CCKF。本试剂盒通常推荐使用荧光酶标仪进行定量检测, 也可以使用流式细胞仪进行定量检测。如果有必要, 也可以使用荧光显微镜或共聚焦显微镜进行细胞的荧光检测。

产品内容

试剂盒组分	规格			储存条件
	100T	500T	2500T	
Calcein AM	12 μ L	55 μ L	260 μ L	-20℃, 避光保存
反应缓冲液	12mL	55mL	260mL	4℃

自备耗材

荧光酶标仪或流式细胞仪或荧光显微镜、离心机
细胞培养板、可调节式移液枪及枪头
去离子水、PBS

试剂准备

Calcein AM: 冰上避光保存。

反应缓冲液: 使用前预热到 37℃。

染色溶液配制: 按每 1mL 反应缓冲液中加入 1 μ L Calcein AM 的比例配制, 根据使用样本的数量按比例放大实验。

注意: 1. 各组分 (小管试剂) 开盖前, 请先低速离心。

2. 本试剂盒提供的 Calcein AM 为 1000 \times 溶液。该 1000 \times 的 Calcein AM 溶液经过优化, 对大多数细胞都适用, 但为得到比较理想的结果, 也可根据细胞类型和实验实际情况对 Calcein AM 在 500-2000 稀释倍数之间进行适当调整。对于 96 孔板, 按推荐稀释倍数配制相关检测试剂, 且每孔使用 100 μ l, 此时本试剂盒的 100T、500T、2500T 分别可以检测 100 次、500 次和 2500 次。

3. 配制好的染色溶液必须一次使用完毕, 不能冻存。也可以用其它合适的溶液, 如无血清培养液、HBSS 稀释 Calcein AM (1000 \times)。

实验步骤

产品说明书

A. 贴壁细胞的荧光酶标仪检测或荧光显微镜检测：

1. 接种培养：将细胞接种于 96 孔板等多孔板、细胞培养皿中或者细胞爬片上，按实验设计对细胞进行一定处理。如果用于 96 孔荧光酶标仪检测，细胞须接种于黑色多孔板，如 BeyoGold™全黑 96 孔细胞培养板中，每孔的细胞数需要控制在 100-10000 个，通常宜在 2000-5000 个范围内。
2. 洗涤：吸除培养液，用 PBS 洗涤细胞 2 遍。酚红或血清对于本试剂盒的检测有一定的干扰，需要洗涤除去。
3. 染色：加入适当体积的染色溶液。通常 96 孔板每孔加入 100 μ l，24 孔板每孔加入 250 μ l，12 孔板每孔加入 500 μ l，6 孔板每孔加入 1ml。37°C 避光孵育 30min。不同的细胞最佳孵育时间有所不同，以 30min 作为初始孵育时间，后续可以根据实际染色效果对染色时间进行适当调整和优化，以得到更加理想的染色效果。
4. 检测：孵育结束后，可以直接用荧光酶标仪(激发波长 494nm，发射波长 517nm，490nm 和 520nm 也可以)检测荧光并计算细胞活性，细胞活性和荧光强度成正比。根据具体的实验目的，也可以在荧光显微镜下观察染色效果。

B. 悬浮细胞的荧光酶标仪检测或荧光显微镜检测：

1. 接种培养：将细胞接种于 96 孔板等多孔板、细胞培养皿中，按实验设计对细胞进行一定处理。如果用于 96 孔荧光酶标仪检测，细胞须接种于黑色多孔板，如 BeyoGold™全黑 96 孔细胞培养板中，每孔的细胞数需要控制在 100-10000 个，通常宜在 2000-5000 个范围内。
2. 洗涤：1000 \times g 室温离心 5min，吸除上清，用 PBS 洗涤 2 遍。酚红或血清对于本试剂盒的检测有一定的干扰，需要洗涤除去。
3. 染色：加入适当体积的染色溶液。通常 96 孔板每孔加入 100 μ l，24 孔板每孔加入 250 μ l，12 孔板每孔加入 500 μ l，6 孔板每孔加入 1ml。37°C 避光孵育 30min。不同的细胞最佳孵育时间有所不同，以 30min 作为初始孵育时间，后续可以根据实际染色效果对染色时间进行适当调整和优化，以得到更加理想的染色效果。
- d. 检测：孵育结束后，可以直接用荧光酶标仪(激发波长 494nm，发射波长 517nm，490nm 和 520nm 也可以)检测荧光并计算细胞活性，细胞活性和荧光强度成正比。根据具体的实验目的，也可以在荧光显微镜下观察染色效果。

C. 流式细胞仪检测：

1. 细胞准备：贴壁细胞胰酶消化后用培养液重悬，并用 PBS 洗涤 2 次。悬浮细胞 1000 \times g 室温离心 5min，弃上清，用 PBS 洗涤 2 次。每个样品推荐的细胞用量为 1×10^6 。
2. 染色：对于上一步骤的 1×10^6 个细胞的沉淀，加入 1ml 染色溶液，重悬为单细胞悬液。37°C 避光孵育 30min。

注意：需要准备好仅含缓冲液的细胞样品用作流式细胞仪检测时的阴性对照，该缓冲液与配制染色溶液的缓冲液宜保持一致。

3. 检测：孵育完成后，可以直接进行流式细胞仪检测，也可以 1000 \times g 室温离心 5min 沉淀细胞，吸净液体后每个样品加入 0.5ml 缓冲液重悬细胞后用流式细胞仪检测。如有需要，也可进行进一步染色。注意整个过程均需避光操作。染色后，将样品置于冰上，尽量在 1 小时内进行流式细胞仪检测和分析。注意使用仅含检测缓冲液的并且未经染色的细胞样品用于流式细胞仪的阴性对照设置。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK0990 活细胞示踪试剂盒（绿色荧光）
- PMK0991 细胞周期染色试剂盒
- PMK0992 EdU-488 法细胞增殖成像检测试剂盒
- PMK0993 EdU-555 法细胞增殖成像检测试剂盒

更多产品详情了解，请关注公众号：

