

Calcein AM Cell Viability Assay Kit

产品描述

Calcein AM细胞活力检测试剂盒（Calcein AM Cell Viability Assay Kit）是一种使用荧光探针calcein AM来检测细胞活力的试剂盒。Calcein AM在calcein的结构上进行乙酰氧基甲酯（AM）基团修饰，增加了疏水性，更容易进入细胞。Calcein AM本身无荧光，进入细胞后可以被酯酶水解成calcein并滞留在细胞内，calcein可发出强绿色荧光。由于死细胞缺乏酯酶，所以calcein AM仅可对活细胞染色，其荧光强度与活细胞数目成正比。

Calcein AM对细胞的毒性非常低，是目前活细胞荧光染色最合适的探针之一。同时与常见的检测细胞活力/增殖的试剂（如MTT、CCK-8）相比，calcein AM的灵敏度更高，本试剂盒可检测低至50个细胞。本试剂盒检测速度快，使用后约30 min后即可进行检测。

组分和储存条件

Components	K2231-100 T	K2231-500 T	K2231-2500 T
Calcein AM (1000X)	12 μ L	55 μ L	260 μ L
染色缓冲液	12 mL	55 mL	260 mL

-20°C 保存，1 年有效。其中 Calcein AM (1000X) 需要-20°C 干燥避光保存，避免反复冻融。

实验操作

- Calcein AM工作液配制：**取适量Calcein AM（1000X）按1：1000比例稀释于染色缓冲液中（1 μ L Calcein AM（1000X）+ 1 mL染色缓冲液），混匀即得Calcein AM工作液。工作液需要现配现用，不可冻存。

***Note:** Calcein AM (1000X) 在潮湿环境中容易分解，建议可以适当分装后-20°C 干燥密封保存。使用前从-20°C 取出需要先平衡到室温。

- 荧光酶标仪或荧光显微镜检测：**

此处以贴壁细胞操作步骤为例，悬浮细胞按实验所需处理后可离心收集细胞并重悬于Calcein AM工作液，后续步骤可参考贴壁细胞操作。

- 细胞接种：**将细胞接种在96孔板或其他孔板中，按实验设计处理细胞。一般96孔板中每孔细胞建议控制在100-10000内，以2000-5000个细胞为宜。

***Note:** 如果用荧光酶标仪进行检测，细胞需要接种于黑色培养板中。

- 洗涤：**弃去细胞培养基，用PBS洗涤细胞1遍。

***Note:** 血清或酚红会干扰本试剂盒的检测，所以需要洗涤以尽量去除血清和酚红残留。

- 3) **染色:** 加入适量Calcein AM工作液，37°C避光孵育30 min。通常96孔板每孔加入100 μ L工作液，6孔板每孔加入1 mL工作液。

***Note:** 最佳孵育时间可以根据具体实验进行调整。

- 4) **检测:** 孵育后，用PBS洗涤细胞1-2遍。随后可通过荧光酶标仪检测荧光强度 (Ex/Em: 494/517 nm)。或使用荧光显微镜进行观察。若有需要，也可继续进行其他荧光复染。

3. 流式细胞仪检测:

- 1) **准备细胞:** 贴壁细胞用胰酶消化后重悬于细胞培养基，PBS洗涤1遍。悬浮细胞则800 rpm离心5 min，PBS洗涤1遍。
- 2) **染色:** 加入Calcein AM工作液重悬细胞并调整细胞密度至 10^6 cells/mL，37°C避光孵育30 min。同时需要准备仅含染色缓冲液的样本作为流式检测的阴性对照。

***Note:** 最佳孵育时间可以根据具体实验进行调整。

- 3) **检测:** 孵育后用PBS洗涤细胞1-2遍，然后加入适量染色缓冲液重悬细胞后进行流式检测。若有需要，也可进行其他荧光复染后再检测。

***Note:** 染色后，需要将样品置于冰上并尽量在1 h内进行流式检测。

■ 注意事项

1. Calcein AM (1000X) 在潮湿环境中容易分解，建议可以适当分装后-20°C密封干燥保存。
2. 如果需要通过荧光酶标仪进行检测，细胞需要接种在黑色培养板中。
3. 荧光探针容易淬灭，保存和使用中都需要注意避光。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅限于科研使用，不得用于临床诊断或治疗。



APEX BIO Technology

www.apexbt.com

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com

