

Live-Dead Cell Staining Kit I (Calcein AM/PI)

产品描述

Calcein AM/PI活死细胞双染试剂盒是一种可以区分含有酯酶活性的哺乳动物的活细胞和死细胞的试剂盒。本试剂盒中含有两种探针，钙黄绿素AM (Calcein AM) 和碘化丙啶 (PI)。其中Calcein AM是一种可以对活细胞进行染色的探针，其在钙黄绿素的基础上增加了AM基团，疏水性更强，更容易进入细胞。Calcein AM本身没有荧光，进入活细胞后被酯酶水解成Calcein，Calcein能发出强绿色荧光。而PI是一种死细胞探针，其只可以进入细胞膜受损的细胞，并将细胞染成红色。通过这两种探针的荧光强度可以反映细胞活性和毒性。

本试剂盒使用方便，一般仅需30 min即可完成染色，之后可以通过荧光显微镜、荧光酶标仪或流式细胞仪等仪器进行检测。由于Calcein AM不能穿透细菌或真菌的细胞壁，所以本试剂盒不适用于细菌或真菌。

组分和储存条件

Components	K2247-100T	K2247-500T	K2247-2500T
Calcein AM (1000x)	10 μ L	50 μ L	250 μ L
PI (1000x)	10 μ L	50 μ L	250 μ L
Staining Buffer	10 mL	50 mL	250 mL

Store the kit at -20°C , stable for 1 year. The Calcein AM (1000x) and PI (1000x) should be stored away from light and moisture, avoiding repeated freeze/thaw cycles.

实验操作

- 染色工作液配制：**对于96孔板，可参考下表体系配制实验所需的染色工作液，并充分混匀。染色工作液需要现配现用，不可保存。染色工作液中Calcein AM (1000x)和PI (1000x)的稀释比例可以根据具体实验进行调整。

试剂	反应个数		
	10	100	1000
Calcein AM (1000x)	1 μ L	10 μ L	100 μ L
PI (1000x)	1 μ L	10 μ L	100 μ L
Staining Buffer	1 mL	10 mL	100 mL
总体积	1 mL	10 mL	100 mL

- 荧光显微镜检测：**

- 1) 细胞培养：**对于贴壁细胞，将细胞接种在孔板、细胞培养皿或细胞爬片上。根据实验设计对细胞进行一定处理。

2) **洗涤**: 去除细胞培养基, 用PBS洗涤1-2次。

***Note:** 酚红或血清会干扰本试剂盒检测, 所以检测前需要尽量洗涤干净。

3) **染色**: 加入适量染色工作液室温避光孵育20 min。对于96孔板, 每孔加入100 μ L染色工作液, 其他孔板可根据孔板大小调整工作液体积, 但是需要确保工作液能充分覆盖细胞。

***Note:** 工作液孵育时间可以根据具体实验进行调整。但是PI染色尽量不要超过30 min, 以免出现PI假阳性。若需要延长Calcein AM染色时间, 配制染色工作液时可以先不加入PI, 在染色结束前10-30 min内再单独加入。

4) **洗涤**: 去除染色工作液, 用PBS洗涤1-2次。

5) **检测**: 加入适量PBS或其他合适缓冲液后即可用荧光显微镜进行检测 (Calcein AM的检测条件为Ex/Em=494/517 nm, PI的检测条件为Ex/Em=535/617 nm)。如有需要, 也可进一步进行其他荧光复染。

***Note:**

a) 如使用黑色96孔培养板, 也可以用荧光酶标仪进行检测。

b) 对于悬浮细胞, 收集细胞后, 用染色工作液重悬至细胞密度为 1×10^6 cells/mL, 室温避光孵育20 min, 取一定细胞悬液滴加于载玻片上, 封片后即可在显微镜下观察。

3. 流式细胞仪检测

1) **细胞培养**: 将细胞接种在孔板、细胞培养皿或细胞培养瓶中。根据实验设计对细胞进行一定处理。

2) **细胞收集**: 对于贴壁细胞, 胰酶消化后用培养基重悬, 1000 rpm室温离心5 min收集细胞; 对于悬浮细胞, 直接1000 rpm室温离心5 min收集细胞。

3) **洗涤**: 用PBS重悬细胞并洗涤1-2次。

***Note:** 酚红或血清会干扰本试剂盒检测, 所以检测前需要尽量洗涤干净。

4) **染色**: 加入适量染色工作液重悬细胞并调整细胞密度为 1×10^6 cells/mL, 室温避光孵育20 min。此外准备一管仅含Staining Buffer的样品作为流式阴性对照; 另外准备两管样品, 每管只加入一种探针 (Calcein AM或PI), 用于流式单染的补偿调节。

***Note:** 工作液孵育时间可以根据具体实验进行调整。但是PI染色尽量不要超过30 min, 以免出现PI假阳性。若需要延长Calcein AM染色时间, 配制染色工作液时可以先不加入PI, 在染色结束前10-30 min内再单独加入。

5) **洗涤**: 1000 rpm室温离心5 min去除染色工作液, 用PBS洗涤1-2次。

6) **检测**: 加入适量PBS或其他合适缓冲液重悬细胞后使用流式细胞仪进行检测 (Calcein AM的检测条件为Ex/Em=494/517 nm, PI的检测条件为Ex/Em=535/617 nm)。

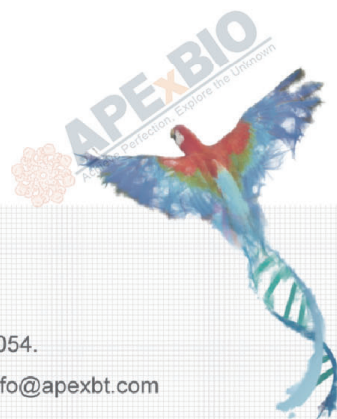
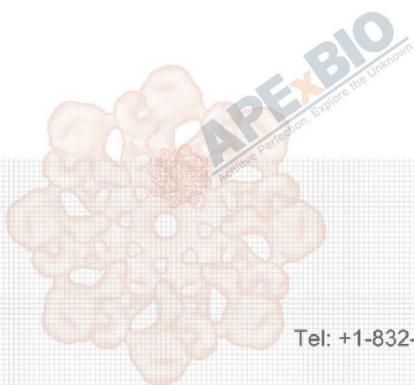
***Note:**

a) 若不能立马检测, 建议将样品避光置于冰上, 并尽量在1 h内进行流式检测。

b) 因为流式检测比较灵敏, 所以流式检测时染色工作液中探针所需浓度可能要比荧光显微镜检测时低, 此时可根据具体实验调整探针浓度。

■ 注意事项

1. 荧光探针容易淬灭，保存和使用时都需要注意避光。
2. Calcein AM (1000x)在潮湿环境中容易分解，同时为尽量避免反复冻融，建议适当分装后密封干燥保存。
3. 因为Calcein AM在水性溶液中不稳定，所以染色工作液必须现配现用，不能冻存。
4. 血清和酚红会干扰Calcein AM染色，所以在染色前需要洗涤细胞。
5. 本试剂盒不适合用于细菌死活染色，若有需求，可选择细菌死活双染试剂盒（货号：K2239）。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. 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