

活/死细胞染色试剂盒 (Calcein AM, EthD-I法)

Catalog Number: PF00008

产品介绍

Viability/Cytotoxicity Assay Kit for Animal Live & Dead Cells (Calcein AM, EthD-I 法) 是一种为动物细胞死活检测提供双荧光染色的试剂盒。试剂盒内的两种探针可分别测定细胞内酯酶活性和质膜完整性从而反映细胞活力。本试剂盒可用于荧光显微镜、流式细胞仪、酶标仪以及其他荧光检测系统。

本试剂盒可以应用于大多数的真核哺乳动物细胞，包括贴壁或悬浮细胞和某些组织，但不适用于真菌和酵母。该试剂盒与相同作用的台盼蓝相比，更快捷安全且灵敏度更高。

产品成分

组分	150T	300T
A. Calcein AM (4 mM in anhydrous DMSO)	50 uL	100 uL
B. Ethidium homodimer-1 (EthD-I) (2 mM in DMSO/H ₂ O 1:4 (v/v))	150 uL	300 uL

注：本试剂盒次数是按照流式细胞仪一个样品使用 0.5 mL 工作液设定的。

包装规格

150T/300T

保存条件

-20°C避光保存，24个月有效。注意 Calcein AM 容易水解，需密封干燥保存，稀释工作液需当天配制。EthD-I 在-20°C保存，2年有效。

使用方法

一、流式细胞检测

1. 取出试剂，恢复至室温。
 2. 准备 2 uM Calcein AM 和 4 uM EthD-I 的染色工作液：取出 Calcein AM 和 EthD-I 原液，使其恢复室温。将 20 uL 2 mM EthD-I 和 5 uL 4 mM Calcein AM 与 10 mL PBS（货号：[PR20023](#)）或其他无血清缓冲液或培养基混合，涡旋混匀。上述工作液可直接用于细胞染色。
 3. 用 1× PBS 充分清洗细胞 2-3 次。
 4. 用 0.5 mL 染色工作液悬浮细胞，控制细胞密度为 $1-5 \times 10^5/\text{mL}$ 。
- 注：我们推荐准备两管额外的样品，每管只加入一种染料（Calcein AM 和 EthD-I），用于流式单染的补偿调节。
5. 室温避光孵育 15-20 min。
 6. 在 30 min 内，通过流式细胞仪检测细胞活性。Calcein AM 可以由 488 nm 激光激发，检测荧光发射光谱约在 530 nm 处，EthD-I 发射光谱约在 610 nm 处。
- 注：细胞圈门时，注意排除细胞碎片，使用单染管调节补偿，双染管流式检测应获得两个相对独立的细胞群：显示绿色荧光的活细胞群和红色荧光的死细胞群。

二、荧光显微镜检测

1. 准备 2 uM Calcein AM 和 4 uM EthD-I 的染色工作液：取出 Calcein AM 和 EthD-I 原液，使其恢复室温。将 20 uL 2 mM EthD-I 和 5 uL 4 mM Calcein AM 与 10 mL PBS 或其他无血清缓冲液或培养基混合，涡旋混匀。上述工作液可直接用于细胞染色。
- 注：Calcein AM 的水溶液易水解，应当天用完。Calcein AM 和 EthD-I 的浓度选择依据所用细胞类型不同而有所区别，推荐浓度范围为 0.1-10 uM。
2. 准备细胞并开展实验。
 3. 对于贴壁细胞，可直接进行染色。对于悬浮细胞，离心收集细胞染色。
 4. 用 1× PBS 充分清洗细胞 2-3 次，以充分去除残留的酯酶活性。
 5. 吸弃 PBS 溶液，对于贴壁细胞，加入足够量的 Calcein AM/EthD-I 染色工作液。对于悬浮细胞，加入适量的染色工作液，使细胞密度控制在 $1-5 \times 10^5/\text{mL}$ 。
 6. 室温避光孵育 15-20 min (如果工作液浓度较高或者孵育温度较高，应适当的减少孵育时间)。
 7. 荧光显微镜下观察标记的细胞。

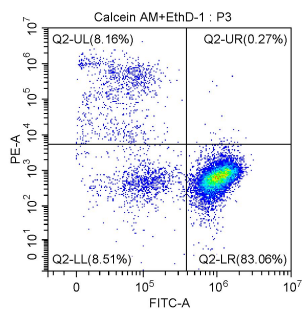
注意

1. 荧光染料均存在淬灭问题，保存和使用过程中请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

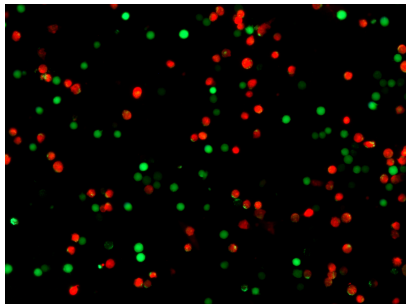
其他

光谱特性：
Calcein AM: Ex/Em = 494/517 nm
EthD-I: Ex/Em = 528/617 nm (结合 DNA)

Validation Data



Jurkat下细胞使用 Calcein AM, EthD-I 法流式结果：Q2-UL: Cell Group with Calcein AM -, EthD-I + (死细胞)；
Q2-LL: Cell Group with Calcein AM-, EthD-I - (细胞碎片)；
Q2-LR: Cell Group with Calcein AM +, EthD-I - (活细胞)。



Jurkat细胞使用 Calcein AM, EthD-I 法免疫荧光结果：Cell: Jurkat
Green: Calcein AM
Red: EthD-I