

Calcein-AM/PI 活/死细胞双染色试剂盒

货号: PMK0989

保存: -20°C 避光保存 12 个月

规格: 500T/1000T/5*1000T

适用样本: 细胞

产品简介

细胞介导的细胞毒性是一种重要现象,其特征是免疫系统使受损的细胞在体内被细胞溶解。区分活细胞和死细胞对于研究生长控制和细胞死亡非常重要。活/死细胞双重染色试剂盒提供了一种方便的测定方法,以评估细胞的活力,它基于使用两种探针同时测定活细胞和死细胞的方法,这些探针测量公认的细胞健康参数:质膜完整性和细胞内酯酶活性。该试剂盒利用可渗透细胞的绿色荧光染料 Calcein AM (Ex/Em=488/530nm) 染色活细胞,并使用不可渗透细胞的红色荧光染料 PI (Ex/Em=535/617) 用来染死细胞。

产品内容

试剂盒组分	规格			储存条件
	500T	1000T	5*1000T	
Calcein AM	55 μ L	110 μ L	510 μ L	-20°C, 避光保存
PI	55 μ L	110 μ L	510 μ L	-20°C, 避光保存
反应缓冲液	55mL	110mL	510mL	4°C

自备耗材

荧光显微镜或流式细胞仪或荧光酶标仪、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。

PI: 冰上避光保存。

反应缓冲液: 使用前预热到 37°C。

染色溶液配制: 按每 1mL 反应缓冲液中加入 1 μ L Calcein AM 和 1 μ L PI 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. 为得到比较理想的结果,可根据细胞类型和实际染色效果对 Calcein AM (1000 \times) 和 PI (1000 \times) 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 500T、1000T、5*1000T 分别可以检测 500 次、1000 次和 5000 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 (C0218) 或 PBS (C0221A/C0221D) 稀释 Calcein AM (1000 \times)。

实验步骤

A. 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。
2. 洗涤: 对于贴壁细胞,吸除培养液,用 PBS 洗涤细胞 1 遍;对于悬浮细胞,250-1000 \times g 室温离心 5min,吸除上清,用 PBS 洗涤 1 遍。

产品说明书

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，在荧光显微镜下观察染色效果 (Calcein AM 为绿色荧光，Ex/Em=494/517nm；PI 为红色荧光，Ex/Em=535/617nm)。

B. 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 洗涤一次；悬浮细胞 250–1000 \times g 室温离心 5min，弃上清，用 PBS 洗涤一次。每个样品推荐的细胞用量为 10⁶ 个细胞。
2. 染色：对于 10⁶ 个细胞，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。

4. 检测：孵育完成后，可以直接进行流式细胞仪检测 (Calcein AM 为绿色荧光，Ex/Em=494/517nm；PI 为红色荧光，Ex/Em=535/617nm)。

注意：由于流式检测比较灵敏，使用的荧光探针浓度可能要比荧光显微镜检测时要低，此时可根据细胞类型和实际染色情况对 Calcein AM 或 PI 的稀释倍数进行适当调整。

C. 荧光酶标仪检测细胞死活的变化

1. 接种培养：将细胞接种于全黑 96 孔细胞培养板，每孔的细胞数需要控制在 100–10,000 个，通常宜在 2000–5000 个范围内。按实验设计对细胞进行一定处理。
2. 洗涤：对于贴壁细胞，吸除培养液，用 PBS 洗涤细胞 1 遍；对于悬浮细胞，250–1000 \times g 室温离心 5min，吸除上清，用 PBS 洗涤 1 遍。
3. 染色：每孔加入 100 μ l 染色溶液。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，以得到理想的染色效果。
4. 检测：孵育结束后，用荧光酶标仪检测 (Calcein AM 为绿色荧光，Ex/Em=494/517nm；PI 为红色荧光，Ex/Em=535/617nm)。通过对比 RFU (Relative fluorescence values)，可以得出死细胞与活细胞数量的变化。

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：

