

Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)

产品编号	产品名称	包装
C1367S	Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	0.1ml
C1367M	Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	0.5ml
C1367L	Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	2ml

产品简介:

- 碧云天研发生产的Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X) (Beyo3D™ Calcein AM Staining Solution, 100X)是一种快速、便捷的用于3D培养的细胞球或类器官等的活细胞染色的溶液。仅需染色10分钟就可在荧光显微镜下观察到非常明亮的活细胞绿色荧光染色。
- Calcein AM (Calcein Acetoxymethyl Ester, 中文名称为钙黄绿素AM或钙黄绿素乙酰氧基甲酯), 是一种可渗透进入细胞、常用于测定真核细胞活力或线粒体通透性转换孔(Mitochondrial Permeability Transition Pore, MPTP)的绿色荧光探针。近年来也被广泛用于细胞活性、细胞毒性或细胞增殖的检测。
- 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, 因此能够轻易穿透活细胞膜, 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。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是目前染活细胞的最理想荧光探针之一。
- 由于死细胞缺乏酯酶, Calcein AM仅用于对活细胞的活力测试和短期标记, 而核酸红色荧光染料碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)由于不能穿透活细胞的细胞膜而只能染色细胞膜完整性被破坏的死细胞, 所以Calcein AM常常与碘化丙啶(ST511)联合使用, 对活细胞和死细胞同时进行双重荧光染色。
- Calcein AM可以应用于大多数的哺乳动物细胞。有报道称Calcein AM也可以用于某些植物细胞如拟南芥(*Arabidopsis*)的根边缘样细胞(Root border-like cells)及某些酵母如*Pichia anomala*和*Saccharomyces cerevisiae*。某些寄生虫如Leishmania由于细胞膜组分的原因, Calcein AM不能进入活细胞, 但却可以进入凋亡早期的寄生虫细胞, 从而与PI联用用于检测凋亡早期的寄生虫。由于真菌和细菌有细胞壁, 会阻碍Calcein进入细胞, 因此Calcein AM不适合用于真菌和细菌。
- Calcein本身是一种金属络合指示剂, 在生理pH条件下和Co²⁺、Ni²⁺、Cu²⁺、Fe³⁺和Mn²⁺等金属离子络合时, 荧光信号会发生淬灭。
- Calcein AM分子式为C₄₆H₄₆N₂O₂₃, 分子量为994.86, CAS号为148504-34-1。水解产物Calcein的最大激发光波长为494nm, 最大发射光波长为514nm。
- **本产品适用范围广。**本产品可用于常规方法培养出的3D细胞球或类器官, 包括超低吸附细胞培养板、Matrix-Gel™ 基质胶或Matrigel包被的平板、琼脂糖包被的平板、细胞悬滴培养板等。
- **本产品使用便捷, 整个检测过程仅需约10-30分钟即可完成。**3D细胞球经凋亡诱导等处理后, 仅需加入本产品避光孵育10分钟即可进行荧光检测。本产品对3D培养的HCT-116细胞的染色效果参考图1。

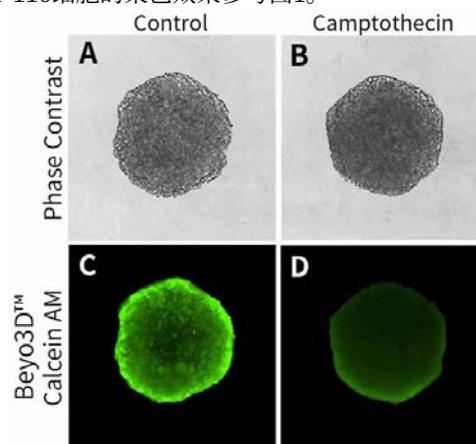


图1. 碧云天Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X) (C1367)对于3D培养的HCT-116细胞的染色效果图。5000个HCT-116细胞在使用碧云天3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板中培养48小时, 100μM Camptothecin (SC0141)诱

导细胞凋亡过夜，然后加入Beyo3D™ Calcein AM染色液(1X)染色10分钟。结果显示，Beyo3D™ Calcein AM染色液对于正常3D细胞染色效果清晰、明亮，而药物诱导凋亡后，荧光强度明显降低。实际检测效果会因细胞株、实验条件、检测仪器的不同而存在差异，图中效果仅供参考。

- 传统的细胞培养大多以二维(Two-dimensional, 2D)的形式展开，但2D培养的细胞在生长方式、生长形态、分化和功能等方面都与体内生理条件下细胞的真实形态和结构存在明显差异，可能会因为细胞结构和组织形态的缺失，使实验结果的可信度降低[1-3]。三维(Three-dimensional, 3D)细胞培养能够更好地模拟体内细胞生存的微环境，更能代表体内组织，也能更真实的反应细胞与细胞间、细胞与基质间的相互作用，细胞对外源性和内源性刺激的应答也更接近于它们在体内的反应，3D细胞培养从而成为更有价值并更为可信的体外实验模型，能够获得与体内实验更加一致的实验结果[4-5]。
- 3D肿瘤细胞模型越来越多地被用于了解疾病机制和药物研发。2D培养的肿瘤细胞，其单侧细胞膜可以均匀地获得营养和氧气，而3D培养的肿瘤细胞团的内部细胞获得营养和氧气的机会更少，形成自然的营养和氧气梯度，能更好地模拟体内微环境条件，因此3D培养的肿瘤球状体(Spheroid)或肿瘤类器官(Organoid)等能更好地模拟体内肿瘤，更利于小分子药物筛选或者肿瘤相关分子机制的研究，也更能准确地预测药物治疗的体内反应、疗效或毒性。同时，2D肿瘤细胞模型体外扩增有一定局限性，在传代后容易丧失原肿瘤的遗传异质性，出现优势克隆选择性，从而降低临床相关性。相比于2D细胞模型，3D细胞球或者类器官很多情况下能提供更为可信的研究结果，简化并加速药物评价流程。自2009年小肠类器官首次建立至今，3D细胞和类器官研究已经扩展到很多组织系统，并成为生命科学最热门的领域之一。
- 按照96孔板每孔1μl Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)，本产品每0.1ml包装可以进行100个样品的检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C1367S	Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	0.1ml
C1367M	Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	0.5ml
C1367L	Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	2ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C避光保存，一年有效。

注意事项：

- 本产品反复冻融可能会降低染色效果，为保证最佳使用效果，请尽量避免反复冻融，第一次解冻后可以适当分装保存。
- 细胞球在外力的作用下容易变形或分散，PBS洗涤及换液等过程须轻缓，避免破坏或吹散3D细胞球。
- 不同种类的细胞球对凋亡诱导剂的耐受可能存在一定的差别，3D细胞球经凋亡诱导后，形态可能会发生一些变化，在染色前可以镜下观察细胞球的形态，可以酌情考虑是否选择形态比较完整的细胞球进行染色分析。
- 本产品浓度经过碧云天的优化，确保可以满足活细胞染色及常规染色的需要。如需使用特定浓度的Calcein AM，请选购碧云天的Calcein AM (钙黄绿素AM) (C2012)。
- 培养液中的血清和酚红对Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)的染色有一定的影响，建议在加入Beyo3D™ Calcein AM染色液(1X)前洗涤细胞球1次。
- Calcein AM标记的细胞，荧光均匀，而且对短期细胞迁移示踪效果非常好，但荧光的持续时间与细胞类型、培养条件等因素相关，一般在几小时之内，而且有时也会被某些类型细胞迅速外排。如果需要长时间标记细胞，请使用CFDA SE (C1031)等荧光探针。
- 荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽量当天完成检测。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

本步骤以96孔板，每孔接种100μl细胞为例，如使用其它类型的多孔板，各试剂使用量请按照相应比例进行换算。

1. 3D细胞的准备。

在96孔3D培养板中每孔接种100μl细胞，细胞的接种量根据具体的实验方案，例如培养天数、需要的3D细胞球的大小等确定，按照3D细胞培养方案培养细胞，并按照实验设计进行一定的处理。96孔3D培养板推荐使用碧云天的3D细胞培养板包被液(C0365)、3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板)(C0366)包被的U形底96孔板，或直接使用BeyoGold™超低吸附96孔板(FULA962/FULA961)、BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(FULA965)等。

注：为达到最佳的使用效果，具体细胞球培养时间、药物等干预时间可以根据细胞种类、具体的实验需求等进行调整。例如，对于HCT-116细胞，通常接种培养48小时形成较为紧实的细胞球后进行干预及染色效果较好。

2. 3D细胞Calcein AM染色。

a. Beyo3D™ Calcein AM染色液(1X)的配制：如下表所示，按照每孔需要100μl Beyo3D™ Calcein AM染色液(1X)的量，用PBS稀释配制适量的Beyo3D™ Calcein AM染色液(1X)。

	10 samples	50 samples	100 samples
PBS	1ml	5ml	10ml

Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	10µl	50µl	100µl
Total volume	1.01ml	5.05ml	10.1ml

注1: 配制时, 考虑移液时可能造成损失, 应多配制1-2个孔的Beyo3D™ Calcein AM染色液(1X)。

注2: 配制好的Beyo3D™ Calcein AM染色液(1X)须一次使用完毕, 不能冻存。

- b. 小心去除原有细胞培养液, 沿着孔壁缓慢加入适量的PBS洗涤细胞球1次。每孔加入100µl Beyo3D™ Calcein AM染色液(1X), 在适宜于细胞培养的温度避光孵育10分钟。

注1: 为达到最佳的染色效果, 具体染色时间可以根据细胞种类、培养天数、细胞球状大小等进行调整。

注2: 3D细胞球通常位于在培养板或培养皿等培养器皿的底部, 培养板在对光线时能看到孔内针尖大小的乳白色细胞球, 吸除孔内液体时须尽量避开细胞球以免将细胞球吸走。可以根据孔内液体的体积将移液器调至合适的量程, 例如需要吸除的液体体积为100µl, 将200微升移液器的量程调整到50-70微升, 避开细胞球从液体边缘缓慢、分次吸除。孔内加入液体时, 沿着孔壁小心、缓慢加入, 避免破坏或吹散3D细胞球。

3. 荧光照片拍摄。

染色结束后, 小心去除孔内染色液, 沿着孔壁缓慢加入适量的PBS洗涤细胞球1次并换液以终止染色, 即可在荧光显微镜下观察。

参考文献:

1. Kapał czyńska M, Kolenda T, Przybył a W, Zają czkowska M, Teresiak A, et al. Arch Med Sci. 2018. 14(4):910-919.
2. Riedl A, Schleder M, Pudelko K, Stadler M, Walter S, et al. J Cell Sci. 2017. 130(1):203-218.
3. Hoarau-Véchet J, Rafii A, Touboul C, Pasquier J. Int J Mol Sci. 2018. 19(1):181.
4. Ravi M, Paramesh V, Kaviya SR, Anuradha E, Solomon FD. J Cell Physiol. 2015. 230(1):16-26.
5. Antoni D, Burckel H, Josset E, Noel G. Int J Mol Sci. 2015. 16(3):5517-27.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0365	3D细胞培养板包被液	20/100ml
C0366S	3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板)	5plts
C0049	Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	100/500/2500次
C0061	CellTiter-Lumi™发光法3D细胞活力检测试剂盒	100/500/2500次
C0371	Matrix-Gel™基质胶(标准型, 含酚红)	1/5/10/50ml
C0372	Matrix-Gel™基质胶(标准型, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0376	Matrix-Gel™基质胶(低生长因子, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0383	Matrix-Gel™基质胶(高浓度, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0387	Matrix-Gel™基质胶(高浓度低生长因子, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0392	Matrix-Gel™基质胶(干细胞用, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0396	Matrix-Gel™基质胶(类器官用, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C1341	Beyo3D™ DAPI染色液	10/50/200ml
C1345	Beyo3D™ Hoechst 33342染色液	10/50/200ml
C1352	Beyo3D™ PI染色液	10/50/200ml
C1356	Beyo3D™ YO-PRO-1染色液	10/50/200ml
C1363	Beyo3D™ YO-PRO-1/PI细胞凋亡与坏死检测试剂盒	100/500次
C1367	Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	0.1/0.5/2ml
C1371	Beyo3D™ Calcein/PI细胞活性与细胞毒性检测试剂盒	100/500次
C1375	Beyo3D™活死细胞活力检测试剂盒	100/500次
P0121	BeyoCUBIC™ 3D细胞透明化试剂盒	5/25ml
FULA061	BeyoGold™超低吸附6孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA122	BeyoGold™超低吸附12孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA243	BeyoGold™超低吸附24孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA485	BeyoGold™超低吸附48孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA961	BeyoGold™超低吸附96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA962	BeyoGold™超低吸附96孔板(圆底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA965	BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA981	BeyoGold™超低吸附384孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA985	BeyoGold™超低吸附黑色透明底384孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA035-10pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋
FULA035-40pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱

FULA060-10pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋
FULA060-40pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA100-10pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋
FULA100-40pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱

Version 2024.05.13