

# 产品说明书

## 5(6)-CFDA, SE (5(6)-羧基荧光素二乙酸, 琥珀酰亚胺酯)

产品货号: C4070

产品规格: 5 mg

应用范围: 细胞成像、细胞增殖和功能、细胞示踪、细胞计数

### 产品参数

外观: 可溶于 DMSO 的白色或浅黄色固体

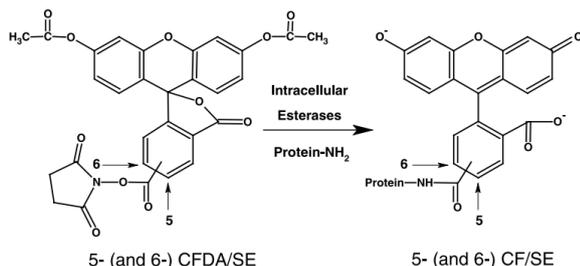
CAS 号: 150347-59-4

Ex/Em: 494/521 nm (pH=7)

分子式:  $C_{29}H_{19}NO_{11}$

分子量: 557.5

细胞标记机制:



### 储存条件

-20°C避光保存, 有效期见外包装。

### 产品介绍

5(6)-CFDA, SE 是一种可对活细胞进行荧光标记的细胞示踪染料, 不仅可用于细胞增殖的体外实验, 还可用于追踪细胞在体内的分裂增殖过程。

5(6)-CFDA, SE 是二乙酸荧光素 (Fluorescein diacetate, FDA) 的衍生物, 具有细胞膜渗透性, 本身不具有荧光发光性。当通过被动运输穿透细胞膜进入活细胞后, 被胞浆内的酯酶催化生成羧基荧光素琥珀酰亚胺酯 (carboxyfluorescein succinimidyl ester, CFSE), 可发强烈的绿色荧光, 不能穿透细胞膜, 能完好的保留在胞内。CFSE 还可自发并不可逆

地与细胞内的氨基结合从而偶联到细胞蛋白质上, 同时过量且未被偶联的 5(6)-CFDA, SE 通过被动扩散回到细胞外培养基内, 被后续清洗步骤所清除。经 5(6)-CFDA, SE 标记的非分裂细胞的荧光非常稳定, 稳定标记的时间可达数月, 因此非常适用于细胞群落分析。

5(6)-CFDA, SE 标记细胞的荧光非常均一, 优于以前使用的其他细胞示踪荧光探针如 PKH 26, 并且分裂后的子代细胞的荧光分配也很均一。在细胞分裂增殖过程中, CFSE 标记荧光可平均分配至两个子代细胞中, 荧光强度变为亲代细胞的一半, 通过流式细胞仪 (FL1 通道) 根据荧光强度的不同, 可检测出未分裂细胞, 分裂一次 (1/2 的荧光强度), 二次 (1/4 的荧光强度), 三次 (1/8 的荧光强度), 以及更多分裂次数的细胞。5(6)-CFDA, SE 可检测分裂次数多达八次甚至更多。经 5(6)-CFDA, SE 标记的细胞可用于体外和体内增殖研究, 且具有不会使邻近细胞染色的功能。5(6)-CFDA, SE 最常用于淋巴细胞的增殖检测, 也可用于成纤维细胞, 自然杀伤细胞, 造血祖细胞等其他细胞的增殖检测。

5(6)-CFDA, SE 标记细胞呈绿色荧光, 除了流式细胞仪检测细胞增殖外, 还可用荧光酶标板定量活细胞数目, 或者用荧光显微镜进行均一染色的细胞示踪观察。

### 使用方法 (针对活细胞染色的推荐步骤, 可根据实际情况进行适当调整)

注: 5(6)-CFDA, SE 与胺基反应, 所以实验过程中不可使用含胺的缓冲液。

1. 开盖前使其恢复至室温, 然后用 DMSO 制备 10 mM 的 5(6)-CFDA, SE 储液。用 PBS 或适当的缓冲液稀释成 0.5~25



$\mu\text{M}$  的 5(6)-CFDA, SE 工作液(稀释后的工作液要及时使用)。

注: 若进行较长时间的染色或细胞分裂较快, 建议工作浓度为 5-10  $\mu\text{M}$ , 否则建议工作浓度为 0.5-5  $\mu\text{M}$ 。最适工作浓度因细胞不同而异, 建议在一个范围内进行摸索。

2. 离心收集细胞, 用 37°C 预热的 5(6)-CFDA, SE 工作液重悬细胞。

3. 在 37°C 培养细胞 15~30 min。

4. 用 PBS 或适当的缓冲液洗涤细胞两次, 用流式细胞仪 (FL1/BL1 通道) 或荧光显微镜观察细胞。

以下为可选步骤(若后续需要进行抗体标记, 可进行固定和透化):

5. 固定。可使用 3.7% 的多聚甲醛室温固定 15 min。

6. 透化。冰丙酮中透化 10 min。固定和透化后, 细胞需要用 PBS 清洗。

### 注意事项

1. 5(6)-CFDA, SE 与胺基反应, 所以实验过程中不可使用含胺的缓冲液。

2. 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。

3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

