

5(6)-CFDA, SE

(5(6)-羧基荧光素二乙酸, 琥珀酰亚胺酯)

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绿色荧光染料, 除了流式细胞仪检测细胞增殖外, 还可用于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, 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, 能完好地保留在胞内。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, 分裂一次的荧光强度为 1/2, 分裂二次的荧光强度为 1/4, 分裂三次的荧光强度为 1/8, 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。

应用范围

细胞增殖检测、活细胞荧光示踪

产品货号

C4070

储运条件

-20℃干燥避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

产品特点

稳定性强: 荧光亮度强且抗淬灭性好;

批间差小: 公司自研产品, 批间差稳定;

使用方便: 可搭配我司其它试剂使用, 方便灵活。

产品组分

组分	C4070
5(6)-CFDA, SE (5(6)-羧基荧光素二乙酸, 琥珀酰亚胺酯)	5 mg

产品参数

外观: 可溶于DMSO的白色或浅黄色固体

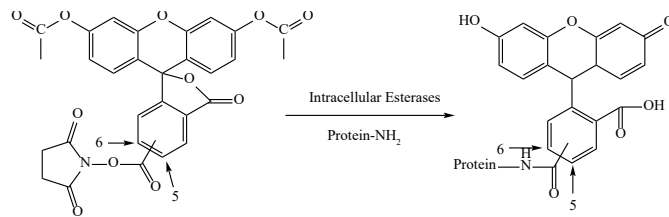
CAS号: 150347-59-4

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

分子式: C₂₉H₁₉NO₁₁

分子量: 557.5

分子结构图:



注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底, 再进行后续实验。
2. SE 易被水解, 在水溶液中会很快变质, 请在使用过程中避免接触水。在标记细胞的过程中和水接触是在许可的范围内的。
3. 5(6)-CFDA, SE 可与胺反应, 实验过程中请勿使用含胺的缓冲液。
4. 本产品性能与细胞内酯酶的活性相关, 不同细胞内的酯酶活性不同, 不同的细胞样本可能需要摸索染色工作液的浓度。
5. 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。
6. 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品和药品, 不得存放于普通住宅内。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1. 耗材
离心管
2. 试剂
(1) 无水 DMSO
(2) 无血清的细胞培养基或 HBSS 或 PBS
(3) 完全细胞培养基
3. 仪器
荧光显微镜或流式细胞仪

操作步骤

1. 工作液准备

(1) 10 mM 5(6)-CFDA, SE 储液准备

开盖前使其恢复至室温, 用 897 μ L 的 DMSO 溶解 5 mg 的 5(6)-CFDA, SE 得到 10 mM 储液。请将储液分装成小管置于 -20℃ 或 -80℃ 冰箱中避光保存 (-20℃ 可存 2 个月, -80℃ 避光保存可适当延长使用时间)。

(2) 5(6)-CFDA, SE 工作液准备 (现配现用)

用 HBSS/PBS/无血清细胞培养基将 10 mM 储液稀释成 0.5~25 μ M 的工作液 (稀释后的工作液要及时使用), 置于 37℃ 预热备用。

注: 1) 不同的实验体系所需的最佳染色工作浓度可能不同, 需具体实验中摸索优化。为减少毒性负荷, 请尽可能选择低的染料浓度进行实验。

2) 一般建议短期实验 (如生存能力分析等), 可采用 0.5~5 μ M 的工作浓度; 而长期染色 (3 天以上) 或快速分裂期的细胞染色, 建议 5~25 μ M 的工作浓度。

2. 细胞染色

(1) 细胞准备 (针对活细胞染色的推荐步骤, 可根据实际情况适当调整)

1) 悬浮细胞: 当细胞密度达到所需要求时, 即可收集细胞悬液, 400 g 离心细胞 5 min, 弃上清。1×PBS 清洗细胞 2 次。

2) 贴壁细胞: 达到合适的融合度后, 去除培养基, 1×PBS 清洗细胞 1 次。(若是上流式细胞仪检测, 则用胰蛋白酶消化细胞成单细胞悬液, 收集细胞悬液, 400 g 离心细胞 5 min, 弃上清。1×PBS 清洗细胞 2 次。)

(2) 用 37℃ 预热的 5(6)-CFDA, SE 工作液重悬细胞。在 37℃ 培养细胞 15~30 min。

(3) 离心或直接吸弃工作液, 加入 5 倍体积预热的完全培养基 (含血清), 混匀以终止标记反应。离心或直接吸弃培养基, 重复清洗 1 次。

- (4) 更换新鲜预热的培养基，37℃孵育 30min，以保证细胞内酯酶充分水解。
- (5) 用无血清培养液或者 PBS 重悬，流式细胞仪（FL1/BL1 通道）或荧光显微镜（FITC 滤光片）检测或观察细胞。

同系列产品

产品货号	产品名称	选购指南
C4037	5(6)-CFDA (5(6)-羧基二乙酸荧光素)	活细胞荧光示踪探针，膜透性
C4039	6-CFDA (6-羧基二乙酸荧光素)	活细胞荧光示踪探针，膜透性
C4069	6-CDCFDA SE (6-羧基-2',7'-二氯荧光素二乙酸，琥珀酰亚胺酯)	活细胞荧光示踪探针，可与细胞内蛋白质共价结合，可以用于活细胞和甲醛或戊二醛固定细胞
C4043	6-CDCFDA (6-羧基-2',7'-二氯荧光素二乙酸酯)	活细胞荧光示踪探针，膜透性，对酸性 pH 敏感
C4070	5(6)-CFDA, SE (5(6)-羧基荧光素二乙酸，琥珀酰亚胺酯)	活细胞示踪染料，追踪体外细胞增殖过程，可以与细胞内蛋白质共价耦联