

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

产品货号: RA20016

基本信息

中文名称	5(6)-CFDA,SE (5(6)-羧基荧光素二乙酸, 琥珀酰亚胺酯)
英文名称	5(6)-CFDA, SE
产品规格	5mg
存储条件	-20°C, 避光保存
运输条件	低温
有效期	12 个月
激发/发射波长	490-500/517-520nm

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。

实验步骤 (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 μ 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

产品名称: 5(6)-CFDA,SE (5(6)-羧基荧光素二乙酸, 琥珀酰
亚胺酯)

产品货号: RA20016

胞分裂较快, 建议工作浓度为 5-10 μM , 否则建议工作浓度为 0.5-5 μM 。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。

备注: 该试剂仅供科研使用!