

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01165

产品介绍

5(6)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 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)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 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)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 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)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 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)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 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)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 可检测分裂次数多达八次甚至更多。经 5(6)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 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)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 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

细胞成像、细胞增殖和功能、细胞示踪、细胞计数

储运条件

-20 °C 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: 产品为公司自研, 批间差控制的好;

使用方便: 可搭配我司其它试剂使用, 方便灵活。

产品参数

外观: 可溶于 DMSO 的白色或浅黄色固体

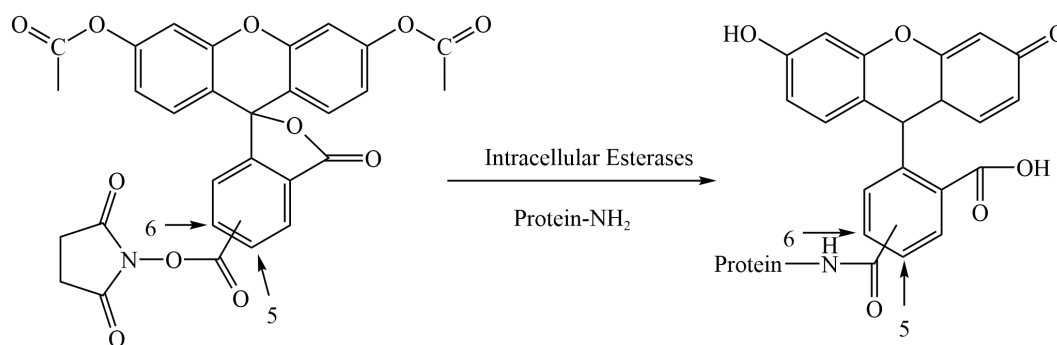
CAS 号: 150347-59-4

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. 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。
2. 5(6)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 与胺基氨基反应，所以实验过程中不可使用含胺的缓冲液。
3. 本品溶解后尽快使用，请勿冻存，可以进行分装储存于 -20°C 或 -80°C 。
4. 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。
5. 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 PBS

3. 仪器

荧光显微镜或流式细胞仪

操作步骤

注：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。

1. 工作液准备

(1) 10 mM 5(6)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 储液准备

开盖前使其恢复至室温，用 $179.4\ \mu\text{L}$ 的 DMSO 溶解 1 mg 的 5(6)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 得到 10 mM 储液。请将储液保存至 -20°C 或 -80°C 冰箱中避光保存，同时注意请勿冻存。

(2) 5(6)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 工作液准备 (现配现用)

用 PBS 或无血清细胞培养基稀释成 $0.5\sim 25\ \mu\text{M}$ 的 5(6)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 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 $5\sim 10\ \mu\text{M}$ ，否则建议工作浓度为 $0.5\sim 5\ \mu\text{M}$ 。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. 细胞染色

(1) 细胞准备

1) 悬浮细胞：细胞悬浮液于 4°C 离心机，1000 g 离心细胞 3~5 min，弃上清。1 × PBS 清洗细胞两次，每次 5 min。

2) 贴壁细胞：去除培养基，1 × PBS 清洗细胞，胰蛋白酶消化细胞成单细胞悬液。细胞悬浮液于 4°C 离心机，1000 g 离心细胞 3~5 min，弃上清。1 × PBS 清洗细胞两次，每次 5 min。

(2) 用 37°C 预热的 5(6)-羧基荧光素二乙酸 琥珀酰亚胺酯 (5(6)-CFDA SE, 绿色) 工作液重悬细胞。在 37°C 培养细胞 15~30 min。

(3) 4°C 离心机，400 g 离心 3~4 min，去上清。

(4) 1 × PBS 清洗细胞两次，每次 5 min。

(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。

注：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）

（6）固定。可使用 3.7% 的多聚甲醛室温固定 15 min。

（7）透化。冰丙酮中透化 10 min。固定和透化后，细胞需要用 PBS 清洗。