

CFDA, SE (CFSE) 细胞增殖示踪荧光探针

产品简介

CFDA, SE, 英文全名 5(6)-Carboxyfluorescein diacetate N-succinimidyl ester, CAS NO. 150347-59-4, 是一种稳定的、细胞膜渗透性的非荧光染料, 由两个醋酸基团和一个琥珀酰亚胺酯 (SE) 官能团组成的一个荧光分子。一旦主动扩散进入细胞, 其醋酸基团被胞内酯酶切割, 生成荧光素酯 CFSE。CFSE 具有高度荧光, 且能通过其琥珀酰亚胺酯基团共价结合到细胞内的蛋白氨基基团。正是这个共价偶联反应, CFSE 能够极其长期的保留在细胞内, 长达数月。另外, 归因于这一稳定连接, 一旦染料进入细胞, 不会转移到邻近细胞。无活力细胞仍然是非荧光。而活细胞一旦分化, CFSE 能够很均匀的分散到子细胞中, 每分裂一次子代细胞约能得到亲本细胞 1/2 的荧光强度, 因此, 通过流式细胞仪对荧光强度的检测, 能够依次分选出未分裂细胞, 分裂一次的细胞 (1/2 荧光强度), 分裂两次的细胞 (1/4 荧光强度), 分裂三次的细胞 (1/8 荧光强度), 以及以此类推其他分裂次数的细胞。CFSE 可以检测分裂多达 8 次或更多次数的细胞增殖。

CFSE 广泛用于细胞增殖和体内细胞示踪研究。CFSE 的最大激发和发射波长分别为 492nm 和 517nm, 标记细胞后呈绿色荧光。使用流式细胞仪检测可用 FL1 检测通道。也能用荧光显微镜观察, 使用 FITC 滤片。

产品组成

名称 编号	FS1158	FS1158	Storage
CFDA, SE (CFSE) 细胞增殖示踪荧光探针	5mg	25mg	-20℃干燥保存
使用说明书	1 份		

基本特性

CAS : 150347-59-4

化学名: 3',6'-bis(acetyloxy)-3-oxo-2,5-dioxo-1-pyrrolidinyl

ester-spiro[isobenzofuran-1(3H),9'-[9H]xanthene] -ar-carboxylic acid

同义名: 5(6)-Carboxyfluorescein diacetate N-succinimidyl ester, 5(6)-CFDA N-succinimidyl ester, CFDA-SE

分子式: C₂₉H₁₉N O₁₁

分子量: 557.46

纯度: ≥94% (HPLC)

Ex/Em: 492/517nm

外观: 近乎白色至黄色粉末或结晶

溶解性: 溶于 DMSO, DMF

储存条件：-20℃干燥保存，2年有效。

使用方法

1. 储存液制备

将低温保存的冻干粉产品置于室温回温至少 20min，之后短暂低速离心，让所有粉末都掉落至管底。称取适量粉末用高质量无水 DMSO 溶解配制 10mM 储存液。比如 5mg CFDA, SE (Mw: 557.46) 用 897ul DMSO 充分溶解即得到 10mM 储存液。根据单次用量分装，置于 ≤ -20℃ 干燥保存，避免反复冻融。储存液建议是一个月内用完，最多不超过三个月。

2. 工作液制备

于正实验前，用于 HHBS 缓冲液或其他生理缓冲液 (pH7.0) 稀释储存液到 1-10uM 工作浓度，涡旋混匀。

【注意事项】：

- 1) CFDA,SE 是胺反应性。CFDA,SE 标记步骤不可使用含胍的缓冲液，比如，HHBS 或 PBS 是推荐的 CFDA,SE 稀释缓冲液。
- 2) CFDA,SE 的染色浓度需要根据使用的细胞类型和实验目的来进行优化调整。比如，如果用于细胞增殖的荧光逐渐稀释分析，相对高浓度的 CFDA,SE 染色工作液比较理想；如果仅是用来标记细胞用作另外一种荧光标志探针的复染剂，相对低浓度的 CFDA,SE 染色工作液比较理想，能够良好的防止不同滤片设置间的荧光溢出。

3. 染色步骤

此染色步骤仅做指导，具体实验步骤可根据实际情况来做适当调整。

- 3.1 室温 300xg 离心细胞 5min,吸掉上清。
- 3.2 用预热的无菌 HHBS,PBS 或其他生理缓冲液清洗细胞以去除任何残留的血清蛋白。之后同上离心细胞，吸掉上清。
- 3.3 用上述配制好的 CFDA,SE 染色工作液重新悬浮细胞，制备成 $1-3 \times 10^7$ cells/mL 的单细胞悬液。
- 3.4 室温 37℃ 避光孵育 15~30min。中间可偶尔的轻轻颠倒混匀使得细胞均匀接触到染剂。
- 3.5 加入 5 倍原始染色体积的细胞培养液 (含 10%FBS) 来淬灭染色过程，轻轻颠倒几次混匀。
- 3.6 室温 300xg 离心细胞 5min,吸掉上清。再用 10ml 完全细胞培养液清洗细胞一次。
- 3.7 再用 10ml 完全细胞培养液重新悬浮细胞，37℃ 孵育 5min，已促进 CFDA,SE 在细胞内的充分反应和未反应的 CFDA,SE 重新回到完全细胞培养液中。离心去上清。完成最后一次清洗。
- 3.8 之后用完全细胞液重悬细胞，此时可用荧光显微镜或流式细胞仪来观察标记效果。或开始用药物刺激处理或继续常规培养。经适当时间后用流式细胞仪检测细胞增殖，或用于特定目的的细胞示踪。标记细胞也可用于活体动物的移植，并用荧光进行示踪。

注意事项

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。