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：SB-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

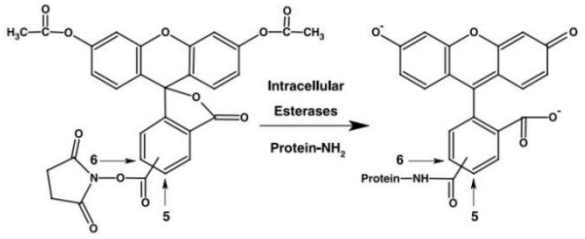
CAS 号：150347-59-4

Ex/Em：494/521 nm（pH=7）

分子式：$C_{29}H_{19}NO_{11}$

分子量：557.47

细胞标记机制：



储存条件

-20℃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 μM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 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℃预热的 5(6)-CFDA, SE 工作液重悬细胞。

3. 在 37℃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。