

CFDA, SE 细胞增殖示踪荧光探针

产品信息:

产品名称: CFDA, SE 细胞增殖示踪荧光探针

规格:

目录号	产品名称	规格
X11936	CFDA, SE 细胞增殖示踪荧光探针	5mg
X11937	CFDA, SE 细胞增殖示踪荧光探针	25mg

产品说明:

CAS 号	150347-59-4
分子式	$C_{29}H_{19}NO_{11}$
分子量	557.46 g/mol
纯度	≥94% (By HPLC)
外观	白色至黄色粉末或者结晶
Ex/Em	492/517nm
溶解度	溶于 DMSO、DMF
运输方式	冰袋运输
保存	-20°C干燥保存, 有效期 1 年

使用说明:

基本描述:

CFDA, SE 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。

使用方法

一. 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 897 μ l DMSO 充分溶解即得到 10mM 储存液。根据单次用量分装, 置于 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 避光干燥保存, 避免反复冻融。

储存液最好是一个月内用完，最多不超过三个月。

二.工作液制备

于正式实验前，用 HHBS 缓冲液或其他生理缓冲液(pH 7.0)稀释储存液到 1-10 μ M 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。

三. 染色步骤

3.1 室温 300 xg 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 x 10⁷cells/mL 的单细胞悬液。

3.4 室温或 37 $^{\circ}$ C 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料。

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 300 xg 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 $^{\circ}$ C 孵育 5min，以促进 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。

本产品仅供科研使用，不可用于临床诊断应用或其他用途。