

产品名称: 6-CDCFDA SE (6-羧基-2',7'-二氯荧光素二乙酸, 琥珀酰亚胺酯)

产品货号: RA20017

基本信息

中文名称	6-CDCFDA SE (6-羧基-2',7'-二氯荧光素二乙酸, 琥珀酰亚胺酯)
英文名称	6-CDCFDA 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	504/529nm

产品参数

外观: 可溶于 DMSO 或 DMF 的白色固体

分子式: C₂₉H₁₇Cl₂NO₁₁

分子量: 626.4

产品介绍

6-CDCFDA SE 是一种活细胞荧光示踪探针, 可以通过被动扩散进入细胞, 与细胞内蛋白共价结合, 是一种长效细胞示踪染料。一旦进入细胞, 非荧光性的 6-CDCFDA SE 会被胞内酯酶水解, 产生绿色荧光。这些荧光产物只能积聚在具有完整细胞膜的细胞中, 因此死细胞无完整细胞膜不能被染色。6-CDCFDA SE 对 pH 变化不敏感, 可以由甲醛或戊二醛固定。

实验准备

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

产品名称: 6-CDCFDA SE (6-羧基-2',7'-二氯荧光素二乙酸, 琥珀酰亚胺酯)

产品货号: RA20017

(1)10 mM 6-CDCFDA SE 储液准备

开盖前使其恢复至室温, 用 159.6 μL 的 DMSO 溶解 1 mg 的 6-CDCFDA SE 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)6-CDCFDA SE 工作液准备 (现配现用)

用 PBS 或无血清细胞培养基稀释成 0.5~25 μM 的 6-CDCFDA 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. 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 \times PBS 清洗细胞两次, 每次 5 min。

2)贴壁细胞: 去除培养基, 1 \times 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 \times PBS 清洗细胞两次, 每次 5 min。

(2)用 37°C 预热的 6-CDCFDA SE 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 \times 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。

备注: 该试剂仅供科研使用!