

CellMarker Green CMFDA（细胞质示踪绿色荧光探针）

Cat NO：IMFP-A007

产品简介

CMFDA，英文全 5-chloromethylfluorescein diacetate，是一种可自由透过活细胞膜对细胞进行示踪的荧光染料。

CMFDA 是二乙酸荧光素（Fluorescein diacetate，FDA）的氯甲基衍生物，具细胞膜渗透性，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，CMFDA 中的亲脂性基团可被胞浆内非特异性酯酶水解，生成 5-氯甲基荧光素（5-chloromethylfluorescein）；5-氯甲基荧光素可发出绿色荧光，因带电荷而不能自由穿透细胞膜，并利用自身氯甲基与细胞内蛋白和多肽中的谷胱甘肽在谷胱甘肽巯基转移酶作用下生成加合物，能完好的保留在胞内。经 CMFDA 标记的细胞，荧光非常稳定，稳定标记的时间可达数天（至3 天），因此非常适用于细胞分化和形态发生等研究。与常用的钙黄绿素和 FDA 相比，具有较长时间的细胞内信号保留特点。

在细胞分裂增殖过程中，CMFDA 标记荧光可分配至两个子代细胞中，且具有不会使邻近细胞染色的功能（有极少情况下通过细胞间缝隙连接发生染色）。同时，CMFDA 标记荧光还主要用于分析细胞间融合、细胞粘附及多药耐药转运蛋白的研究。此外，CMFDA 还可用于与其他细胞示踪染料联合选择性标记感染细胞内的病原菌；与膜不通透性核荧光探针共同使用，可用于细胞活性研究。

产品优势

本品具有细胞示踪试剂理想的特性：稳定、无毒（工作浓度范围内）、细胞内荧光保留性好、强荧光（生理 pH 范围内）。CMFDA 标记细胞呈绿色荧光，Ex=492nm，Em=517nm，可与其他颜色荧光染料，如红色荧光蛋白(red fluorescent protein，RFP) 等共染。

产品信息

表 1.组成信息

产品名称	产品规格	储存条件	保质期
------	------	------	-----

CellMarker Green CMFDA (细胞质示踪 绿色荧光探针)	1mg	-20℃	12 个月
--	-----	------	-------

使用说明

注意：根据不同的细胞或组织类型，以下实验操作步骤指南可能需要做相应的调整。

①根据不同的实验需求选择合适的染色液浓度，建议在正式实验之前做了一个倍比稀释的最佳浓度测试。

②通常情况下，长时间染色（超过3天）使用染色液浓度为 5~25 μM ，短时间染色使用低浓度的染色液浓度 0.5~5 μM ，比如细胞活性分析实验。

③为了维持正常的细胞生理形态，避免给细胞带来不必要的损伤，在达到染色效果的目的的情况下，尽可能地使用低浓度的染色液。

1、使用无水 DMSO 将 CMFDA 固体溶解，配制成 10mM 的储存液。使用无血清的培养基将储存液稀释至 0.5~25 μM 的工作液。在使用之前将工作液置于 37℃ 进行预热。

2、根据不同的细胞类型在不同的细胞培养条件下孵育 15~45 分钟。对于悬浮细胞，离心弃上清，收集细胞沉淀。用预热的染色液重悬细胞；对于贴壁细胞，当细胞生长到合适的细胞密度，移除上清培养液，加入预热的染色液。

3、移除染色液，加入新鲜预热的细胞培养基，37℃ 孵育 30 分钟。

4、对于悬浮细胞，吸取 5 μL 左右染色后的细胞滴至载玻片上，加盖盖玻片，置于荧光显微镜下观察；对于贴壁细胞，直接观察即可。

（可选）如需固定细胞，可先跳过步骤 4，完成固定步骤后再进行观察准备。

5、使用 PBS 清洗细胞。

6、使用含有 3.7% 多聚甲醛的 PBS 固定细胞，室温孵育 15 分钟。

7、使用 PBS 清洗细胞。

8、如果需要可对细胞膜进行透化处理。当细胞需要进行抗体标记时，细胞膜的透化处理是有必要的，便于促进抗原进入细胞。可以使用冰冷丙酮处理细胞 10 分钟，可以提供细胞的渗透性。

注意事项

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 3、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。
- 4、不同的细胞其细胞内酯酶活性不同，因此染色效果具有差异性。
- 5、避免使用含有巯基的缓冲液。