

5-CFDA, AM

最快 15 min 标记，低渗漏低毒，信号稳定，检测细胞活力

产品货号：C20802

产品规格：5 mg

储运条件：-20 °C避光保存，冰袋运输

产品简介：

本产品为 5-CFDA, AM，是一款脂溶性透膜型酯酶荧光底物，专为活细胞活性同步检测开发。本产品本身不带电荷、无本底荧光，可自由穿透完整细胞膜；进入活细胞后，胞内功能性酯酶会水解切除乙酸酯与AM封闭基团，生成 5-羧基荧光素，该产物无法自由跨膜渗漏，仅在细胞膜结构完整、胞内酶系统正常的活细胞内稳定留存，经激发后发出明亮绿色荧光，可同时反映胞内酯酶活性与细胞膜完整性两项关键细胞健康指标。相较于传统FDA（荧光素二乙酸酯）、钙黄绿素AM等同类活细胞染料，本品优势突出：一是透膜效率更高，更低工作浓度即可完成细胞负载，减少高浓度染料带来的细胞毒性；二是水解产物携带额外负电荷，胞内滞留效果优于普通FDA，降低染色后荧光外泄造成的信号丢失、背景升高问题；三是荧光光谱匹配实验室 488 nm 激光器与 FITC 标准滤片，兼容流式、荧光显微镜全平台；四是双重验证检测机制，单染料同步检测激活荧光依赖的酯酶活性、留存荧光产物所需的细胞膜完整性，双重条件协同判定。

细胞活力、细胞膜完整性是细胞生物学、药理学、免疫学研究的基础观测指标。5-CFDA, AM 依托 AM 酯透膜荧光探针成熟技术体系，完美适配贴壁细胞、悬浮细胞等多种细胞模型，拥有广泛且不可替代的科研应用场景：可用于药物筛选体系的细胞毒性定量检测、体外细胞增殖活性评估、免疫细胞活细胞示踪标记、共聚焦荧光显微活细胞成像、流式细胞术活死细胞分群分析；也可与 PI、DAPI 等红色核酸染料共染，实现活/死细胞双通道同步区分，广泛应用于肿瘤药理、干细胞生物学、免疫细胞功能、纳米材料生物安全性评价等前沿研究领域。该产品依靠直观、灵敏、多平台兼容的检测特性，成为细胞活性定性+定量分析的标化工具，大幅提升了细胞损伤、药物药效、细胞存活相关实验的数据可靠性与可重复性，是生命科学基础研究、新药体外细胞筛选、生物材料细胞相容性评价中不可或缺的核心荧光探针，为细胞生理、病理机制探索提供稳定、可视化的定量检测手段。

注：效能等同 Thermo Fisher 5-CFDA, AM（5-羧基荧光素二乙酸，乙酰氧基甲基酯）。

应用范围：活细胞活性定性检测、活细胞活性定量检测、活细胞荧光标记与示踪、活死细胞双染分型、存活分析等

产品特点：

- **双重验证检测机制：**单染料同步检测激活荧光依赖的酯酶活性、留存荧光产物所需的细胞膜完整性，双维度协同判定；
- **胞内锁存低渗漏优势：**水解产物携带额外负电荷，胞内滞留效果显著优于传统 FDA，大幅减少荧光外泄、背景升高问题，信号稳定、信噪表现优异；
- **低毒高效透膜性能：**脂溶性结构透膜效率更高，低工作浓度即可完成细胞负载，有效降低高浓度染料引发的细胞毒性；
- **全平台光谱兼容：**荧光光谱匹配 488 nm 激光器与 FITC 标准滤片，适配荧光显微镜、共聚焦、流式细胞仪全主流检测平台；
- **多场景广泛适配：**可用于细胞毒性检测、增殖评估、活细胞成像、流式分群等实验，能与 PI、DAPI 等染料共染。

产品参数：

- **Ex/Em：**485/515 nm
- **分子式：**C₂₈H₂₀O₁₁
- **分子量：**532.45
- **CAS 号：**124412-00-6



产品组分:

货号	组分	18700 T
C20802	5-CFDA, AM	5 mg

注: 使用次数为每次使用 5 μ M 染色工作液, 每孔加入 100 μ L, 进行 96 孔板荧光显微镜检测计算。

注意事项:

- 使用前请将产品瞬时离心, 再进行后续操作。收到时可以根据需要适当进行分装。
- 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光。
- 为了您的安全和健康, 请遵循您所在常规实验室安全规定。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。

使用说明:

一、实验前准备

1. 试剂准备:

- 将试剂从储存条件 (如-20 $^{\circ}$ C) 取出, 平衡至室温(15~25 $^{\circ}$ C), 准备足量的PBS/无血清培养基。

2. 储液制备:

- 将本产品瞬时离心, 用适量的无水DMSO溶解制备10 mM的储液。

注: 一旦配成溶液, 请分装并避光保存在-20 $^{\circ}$ C, 避免反复冻融造成产品的失效。

3. 工作液准备:

- 染色工作液: 用适量的PBS/无血清培养基稀释储液。推荐该染料的工作浓度为1~10 μ M, 如按照每0.1 μ L 10 mM的储液加入199 μ L PBS/无血清培养基中, 混匀后即成为5 μ M染色工作液。

样品数量	5	10	100
5-CFDA, AM 储液	1 μ L	2 μ L	20 μ L
PBS	499 μ L	998 μ L	9980 μ L
染色混合液	500 μ L	1000 μ L	10 mL

注: 以贴壁细胞 (96 孔板) 举例, 每孔 100 μ L 染色工作液。

注: 稀释后的工作液应当天用完, 现用现配, 不可冷藏或冷冻保存。

注: 不同细胞样本染色敏感度存在差异, 建议设置浓度梯度预实验, 确定最优染色浓度。首次实验终浓度推荐为 5 μ M。

注: 当染料荧光亮度过高时, 优先选用低浓度、短孵育时间以降低背景干扰; 当荧光信号偏弱时, 可选用高浓度区间或者适当延长孵育时长。

4. 仪器准备:

- 荧光显微镜: 激发/发射波长Ex/Em: 485/515 nm。
- 流式细胞仪: 激发/发射波长Ex/Em: 485/515 nm。

5. 细胞准备: 按照实验设计进行细胞处理。

二、操作步骤

1. 吸弃细胞培养基, 使用 PBS 缓冲液清洗细胞 2~3 次。

注: 染色前充分洗净残留血清, 血清中含酯酶会引发胞外染料提前水解, 造成背景荧光偏高, 影响观测结果。

2. 加入 37 $^{\circ}$ C 预热好的染色工作液。

3. 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 15 min, 孵育时长可根据实际观察到的染色效果进行灵活调整, 调整区间为 15~60 min。

注: 各染料的孵育时长、加样量可以根据实验所用的不同细胞种类、预实验结果或实验条件设置的使用量进行调整。

4. 检测:

- 荧光显微镜: 孵育结束后建议用PBS洗涤细胞2~3次, 去除胞外游离染料, 降低背景荧光, 提升成像信噪比。
- 流式细胞仪: 染色孵育完成后无需洗涤, 直接上机。

三、结果判读



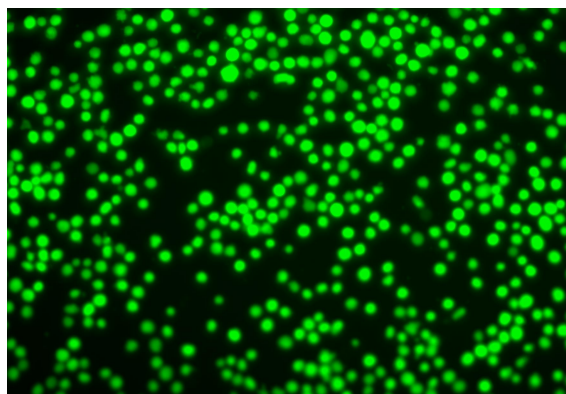


图 1.5-CFDA, AM 荧光成像图

结果判读：本次实验视野内 5-CFDA, AM 孵育悬浮 K562 细胞呈清晰圆形，完整活细胞胞内充满均匀明亮绿色荧光，细胞轮廓边界分明，背景无明显游离荧光杂质；无荧光暗斑死细胞占比极低，细胞分布均匀、形态完整，无破碎细胞碎片干扰。

常见疑问与解答：

- 问：染色前为什么用PBS洗涤细胞2~3次？

答：细胞培养液中的血清含有大量非特异性酯酶，若血清残留，会提前水解胞外的 5-CFDA, AM 探针，生成游离荧光产物，大幅升高背景荧光，干扰细胞真实荧光信号；充分 PBS 清洗可去除血清，显著降低非特异性染色，提升信噪比。

- 问：和传统FDA染料相比，本品有什么优势？

答：传统 FDA 水解产物无法稳定校验细胞膜完整性，仅能单维度参考酯酶活性；5-CFDA, AM 水解产物额外携带羧基，负电荷更高，胞内锁存效果更强，可同步验证酯酶激活荧光与细胞膜完整度双重指标，大幅减少假阳性、不漏检早期代谢损伤细胞。

- 问：本系列产品5-CFDA、5-CFDA, AM、5-CFDA SE，有什么区别？

答：本系列产品区别优势如下表。

产品名称	5-CFDA	5-CFDA, AM	5-CFDA SE
结构差别	游离羧基	AM 脂溶性修饰	NHS 氨基反应活性酯
细胞膜穿膜能力	弱	极强（三者最优）	中等
染料渗漏速度	快	中等	几乎无渗漏
细胞分裂追踪能力	不支持	不支持	支持（长期追踪）
固定后荧光保留	完全淬灭（不可固定）	完全淬灭（不可固定）	稳定保留（可固定、可存档）
细胞毒性	极低	极低	低-中等（高浓度有毒性）
核心适用场景	短时活率检测、胞内 pH 测定、低成本快速观测	高通量活力筛选、短时动态成像、微生物活菌计数	细胞增殖、长期/体内示踪、固定共染、样本存档

