

CFDA-SE Cell Proliferation and Tracking Kit

CFDA-SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒

产品简介

CFDA-SE Cell Proliferation and Tracking Kit 是基于 CFDA-SE 对细胞进行示踪及增殖检测的试剂盒，由 CFDA-SE 粉末、溶剂及细胞染色缓冲液组成。

CFDA-SE 具有细胞膜渗透性，本身不发出荧光。当其通过被动运输穿透细胞膜进入活细胞后，可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），后者可发出强烈的绿色荧光，且不能穿过细胞膜，可保留在胞内。CFDA-SE 标记细胞的荧光非常均一，可随着细胞的分裂增殖而被子代细胞均匀继承，其含量的衰减与细胞分裂次数成正比，该荧光信号可在 488 nm 的激发光下进行检测。CFSE 还可自发性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 CFDA-SE 通过被动扩散回到细胞外培养基中，经过后续清洗步骤被清除。

CFDA-SE 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。经 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。

本品包含配制 CFDA-SE 储存液所需的粉末、溶剂和细胞标记用的染色缓冲液，简化了实验前期准备工作。另，CFDA-SE 标记细胞一般 15 min 即可完成，对于不同细胞，需要自行摸索最佳标记时间。按照每个样本的标记体积为 2 mL 计算，对应货号 C331306E 和 C331306S 的试剂盒可分别进行 500 次和 1000 次检测。

产品规格

货号	C331306E/C331306S
规格	500 T/1000 T

组分信息

组分编号	组分名称	C331306E	C331306S
C331306-A	CFDA-SE 荧光探针	1 管×2	1 管×4
C331306-B	CFDA-SE 溶剂	500 μ L×2	500 μ L×4
C331306-C	细胞染色缓冲液（5×）	200 mL×1	200 mL×2

储存条件

冰袋运输。-20°C干燥避光保存，有效期 2 年。

注意事项

1. CFDA-SE 易被水解，在水溶液中会很快变质。因此保存过程中粉末或者储存液都需干燥保存；而且使用过程中避免接触水。但在标记细胞的过程中和水接触是允许的。

2. CFDA-SE 溶剂在 4℃、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管管底、管壁或管盖内，于 20-25℃ 水浴温育片刻至全部融解后方可使用。
3. 不同的细胞由于其细胞内酯酶活性不同，染色效果具有差异性。
4. 虽然本试剂盒已对 CFDA-SE 染色体系做了优化处理，但建议使用者根据自身的细胞类型，培养条件以及应用的不同来摸索最佳的工作浓度，以最低得到适宜标记效率的浓度为准。
5. 荧光染料均存在淬灭问题，染色过程需尽量避免。
6. 为了您的健康，实验操作时请穿实验服和戴一次性手套。
7. 本产品仅用于科研。

使用说明

1. CFDA-SE 储存液（1000×）的配制

加入 500 μL CFDA-SE 溶剂到 1 管 CFDA-SE 荧光探针中进行溶解，充分混匀即得到 1000× 的储存液。

【注意】该储存液最好在 1 个月内使用完毕，最长不超过 2 个月。剩余储存液请务必分装后于 ≤ -20℃ 避光干燥保存，避免反复冻融，-70℃ 避光保存可适当延长保存周期。

2. 2×CFDA-SE 工作液的配制

取适当体积的细胞染色缓冲液（5×），用无菌的去离子水进行 5 倍稀释，配制成 1× 细胞染色缓冲液，并利用该缓冲液对上述 CFDA-SE（1000×）储存液进行 500× 稀释，如取 2 μL CFSE 储存液加入到 1 mL 1× 细胞染色缓冲液中，混匀后即可得到 2×CFDA-SE 染色工作液。

【注意】虽然本试剂盒已对 CFDA-SE 染色体系做了优化处理，但建议使用者根据自身的细胞类型，培养条件以及应用的不同来梯度摸索最佳工作浓度，以最低得到适宜标记效率的工作浓度为准。

3. 操作步骤

- 1) 离心收集细胞，利用 1 mL 1× 细胞染色缓冲液悬浮细胞于 15 mL 离心管，并调整细胞浓度为 $1-5 \times 10^6$ 个/mL；
- 2) 把 1 mL CFDA-SE 工作液(2×)加入到上述 15 mL 离心管内，轻轻混匀。
- 3) 37℃ 孵育 10 min。 **【注意】**对于不同细胞，需要自行摸索最佳标记时间。
- 4) 立即在 15 mL 离心管内加入约 10 mL 完全细胞培养液(含 10% FBS)，室温颠倒数下混匀，以终止标记反应。
- 5) 室温离心去上清，再用 5-10 mL 完全细胞培养液洗涤一次。
- 6) 再加入 5-10 mL 完全细胞培养液，37℃ 孵育 10 min，以促进 CFSE【酯酶催化 CFDA-SE 得到的荧光产物】在细胞内的驻留及未反应的 CFDA-SE 进入完全细胞培养液。离心去上清，完成最后一次洗涤。
- 7) 此时标记好的细胞已可进行后续的体外增殖检测或者特定目的的细胞示踪。按照正常方法培养细胞，然后在合适的时间点用荧光显微镜或流式细胞仪【FL1 通道】进行结果分析，呈绿色荧光。标记的细胞也可用于活体动物的移植，并用荧光进行示踪。

【注意】若需要对细胞进行固定，请用醛类固定剂如 3.7% 多聚甲醛于室温固定 15 min；之后若还需要进行其他如抗体标记，请用冰丙酮透化处理细胞 10 min。