

HB220609

CFDA SE Cell Proliferation and Cell Tracking Kit

细胞增殖与示踪检测试剂盒

产品信息

产品名称	产品编号	规格
CFDA SE Cell Proliferation and Cell Tracking Kit 细胞增殖与示踪检测试剂盒	40714ES76	500 T
	40714ES80	1000 T

产品描述

CFDA SE Cell Proliferation and Cell 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、溶剂及相关细胞染色缓冲液组成, 该试剂盒主要工作原理为: CFDA, SE具有细胞膜渗透性, 本身不具有荧光发光性。当通过被动运输穿透细胞膜进入活细胞后, 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), 后者可发强烈的绿色荧光, 不能穿透细胞膜, 能完好的保留在胞内。CFSE还可自发性并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内, 被后续清洗步骤所清除。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。

CFDA, SE标记细胞的荧光非常均一, 优于以前使用的其他细胞示踪荧光探针如PKH26, 并且分裂后的子代细胞的荧光分配也更均一。在细胞分裂增殖过程中, CFSE 标记荧光可平均分配至两个子代细胞中, 荧光强度变为亲代细胞的一半, 通过流式细胞仪 (FL1通道) 根据荧光强度的不同, 可检测出未分裂细胞, 分裂一次 (1/2的荧光强度), 二次 (1/4的荧光强度), 三次 (1/8的荧光强度), 以及更多分裂次数的细胞。CFSA, SE可检测分裂次数多达八次甚至更多。经CFDA, SE标记的细胞可用于体外和体内增殖研究, 且具有不会使邻近细胞染色的功能。CFDA, SE最常用于淋巴细胞的增殖检测, 也可用于成纤维细胞, 自然杀伤细胞, 造血祖细胞等其他细胞的增殖检测。

CFDA, SE标记细胞呈绿色荧光, Ex=494 nm, Em=521 nm, 除了流式细胞仪检测细胞增殖外, 还可用荧光酶标板定量活细胞数目, 或者用荧光显微镜进行均一染色的细胞示踪观察。

本品为CFDA, SE细胞增殖与示踪检测试剂盒, 包含配制CFDA, SE储存液所需的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40714ES76和40714ES80的试剂盒可分别进行500次和1000次检测。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格	
		40714ES76 (500 T)	40714ES80 (1000 T)
40714-A	CFDA, SE 荧光探针	1 管×2	1 管×4
40714-B	CFDA, SE 溶剂	500 μL×2	500 μL×4
40714-C	细胞染色缓冲液 (5×)	200 mL×1	200 mL×2

运输与保存

冰袋运输。-20℃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在许可范围

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) 不同的细胞其细胞内酯酶活性不同，因此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梯度摸索最佳的工作浓度，以最低浓度得到适宜的标记效率为准。

5) 荧光染料均存在淬灭问题，染色过程需尽量避光。

6) 为了您的健康，实验操作时请穿实验服和带一次性手套。

7) 本产品仅作科研用途！

操作方法

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的工作浓度，以最低工作浓度得到适宜的标记效率为准。

3. 操作步骤

1) 离心收集细胞，利用1mL 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。