

CFDA, SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒

货号: CA1200

规格: 1000T/2000T

保存: -20°C 保存, 1 年有效。其中 CFDA, SE 荧光探针需避光保存。

产品内容:

组分名称	1000T	2000T
CFDA,SE 荧光探针	1 支干粉	2 支干粉
CFDA,SE 溶剂	1mL	1mL× 2
细胞染色缓冲液 (10×)	100mL	100mL× 2

产品简介:

CFDA, SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒是基于 CFDA, SE 对细胞进行示踪及增殖检测的试剂盒, 该试剂盒主要工作原理为: CFDA, SE 是一种膜通透性的荧光素染料, 本身不具有荧光发光性。当其透过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稳定, 稳定标记的时间可达数月, 因此适用于细胞群落分析。

CFDA, SE 标记细胞的荧光均一, 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。CFDA, 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, 使用流式细胞仪检测时可以采用 FL1 detection channel。CFDA, SE 标记的细胞也可以用荧光显微镜进行观察。可用 488nm 激发波长进行检测。

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。CFDA, SE 标记细胞一般 10-15 min 即可完成, 对于不同细胞, 需要自行摸索最佳标记时间。按照每个样本的荧光探针标记体积为 1mL 计算, 本试剂盒两个规格分别可检测 1000 次和 2000 次。

使用方法:

1. CFDA, SE 储存液 (1000×) 的配制

取 1mL CFDA, SE 溶剂加入到 1 管 CFDA, SE 荧光探针中, 充分混匀即得到 1000× CFDA, SE 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°C 避光干燥保存, 最好能 -70°C 避光保存, 避免反复冻融, -70°C 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（10×），用无菌的去离子水进行 10 倍稀释，配制成 1×细胞染色缓冲液，并用 1×细胞染色缓冲液将 CFDA,SE（1000×）储存液稀释 500 倍制成 2×CFDA,SE 工作液，如取 2 μL CFDA,SE 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，用 1×细胞标记液悬浮细胞并调整密度至 $1-5 \times 10^6$ 个/mL 细胞，取 1mL 细胞置于 15ml 离心管内。

（2）取 1 mL 37℃ 预热的 CFDA,SE 工作液(2×)加入到上述 15 mL 离心管内，轻轻混匀。

（3）37℃ 避光孵育 10 min。

（4）立即在 15 mL 离心管内加入约 10 mL 37℃ 预热的完全细胞培养液(含 10% FBS)，室温颠倒数下混匀，以终止标记反应。

（5）室温 1000rpm 离心 5 min 去除上清，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 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。调整细胞密度按照正常方法培养细胞，并在合适的时间点用荧光显微镜（488nm 激发光）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。（若需要对细胞进行固定，请用醛类固定剂如 4% 多聚甲醛于室温固定 15 min）。

注意：对于不同细胞，CFDA,SE 荧光探针的最佳标记浓度和孵育时间是不同的，初次实验可按照实验步骤进行，若效果不佳，建议调整染色浓度以及孵育时间，获得最佳标记效果。

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内的

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，可以 20-25℃ 水浴温育片刻至全部融解后使用。

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，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。

6、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，不得存放于普通住宅内。

7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。