

CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒

Cat NO : IMFP-A008

产品描述

CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒(CFDA SE Cell Proliferation Assay and Tracking Kit)是基于一种新型荧光探针 CFDA SE 的用于细胞增殖检测和细胞荧光示踪的检测试剂盒。CFDA SE 目前被广泛用于替代 MTT 法或 $[3H]$ -thymidine 掺入等其它细胞增殖检测方法。

基于 CFDA SE 荧光标记的细胞增殖检测和 $[3H]$ -thymidine 掺入、BrdU 标记获得的检测结果完全一致，但同时可以提供更多的细胞增殖信息。使用CFDA SE 检测可以提供整个细胞群中有多少比例的细胞分裂了 1 次、2 次或更多次数，同时如果和其它荧光探针联用，可以获取不同分裂次数细胞的其它相关信息。

CFDA-SE 的全称为 Carboxyfluorescein diacetate, succinimidyl ester, 分子式为 $C_{29}H_{19}NO_{11}$, 分子量为 557.47。CFDA SE 可以通透细胞膜，进入细胞后可以被细胞内的酯酶(esterase)催化分解成 CFSE，CFSE 可以偶发性地(spontaneously)并不可逆地和细胞内蛋白的 Lysine 残基或其它氨基发生结合反应，并标记这些蛋白。在加入荧光探针 CFDA SE 后大约24 小时，即可充分标记细胞。被 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。CFDA SE 标记细胞的荧光非常均一，比以前使用的其它细胞示踪荧光探针例如 PKH26 的荧光更加均一，并且分裂后的子代细胞的荧光分配也更均匀。

由于 CFDA SE 标记细胞的荧光非常均匀和稳定，每分裂一次子代细胞的荧光会减弱一半，这样通过流式细胞仪检测就可以检测出没有分裂的细胞，分裂一次的细胞($1/2$ 的荧光强度)，分离两次的细胞($1/4$ 的荧光强度)，分裂三次的细胞($1/8$ 的荧光强度)以及类似的其它分裂次数的细胞。采用CFDA SE 通过流式细胞仪检测获得的检测结果参考右图。每一个峰代表一种分裂次数的细胞，从右至左的峰通常依次为分裂 0 次、1 次、2 次、3 次等次数的细胞。分裂次数较多后，分裂 0 次或 1 次等没有分裂或分裂次数较少的细胞会逐渐减少直至检测不到。

使用CFDA SE 可以检测分裂多达 8 次或更多次数的细胞增殖。

目前 CFDA SE 标记细胞后通常用流式细胞仪进行细胞增殖检测。最常用于淋巴细胞的增殖检测，也可以用于成纤维细胞、NK 细胞等其它细胞的增殖检测，甚至还可以用于细菌增殖的检测。

CFDA SE 标记细胞呈绿色荧光，检测时的激发波长可以选择488nm，此时的发射波长为518nm，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。

CFDA SE 标记的细胞无论在体外还是体内都不会使邻近细胞染色。即 CFDA SE 荧光探针完成标记后不会从一个细胞转移到邻近细胞。

CFDA SE 标记细胞仅需5-15 分钟即可完成。对于不同细胞，最佳标记时间需自行摸索。本试剂盒提供了配制 CFDA SE 所需的溶液以及 CFDA SE 进行细胞标记时所需的配套试剂。

如果每个检测样品的荧光探针标记体积为 1ml，本试剂盒共可以检测 500-1000 个样品。

产品信息

表 1.产品信息

产品名称	产品规格	储存条件	保质期
CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒	500T/1000T	-20℃	12 个月

表 2.产品组成

产品名称	1000T	500T
CFDA SE	1 管	1 管
CFDA SE 溶剂	1 ml/管	500 μl/管
CFDA SE 细胞标记液(10X)	100 ml/瓶	50 ml/瓶

使用说明

1. 检测前的准备：
- a. CFDA SE 储存液(1000X)的配制：用试剂盒中所带的共 1ml CFDA SE 溶剂溶解 CFDA SE，

即可配制成 CFDA SE 储存液(1000X)。配制完成后分装到试剂盒所提供的原来装 CFDA SE 溶剂的管子中，并做好标记。-20℃避光保存，最好能-70℃避光保存。-20℃避光保存宜在一个月内使用完毕，最长不宜超过 2 个月。-70℃避光保存可以适当延长使用时间。

b. CFDA SE 细胞标记液的配制：准备适量无菌的细胞培养级纯水，根据实验需要配制适量的 CFDA SE 细胞标记液。例如，取 20ml CFDA SE 细胞标记液(10X)，加入 180ml 细胞培养级纯水，混匀后即为 CFDA SE 细胞标记液。配制好的 CFDA SE 细胞标记液可以4℃保存，长时间不用可以-20℃保存。

2. 标记和检测：

a. 用 1ml CFDA SE 细胞标记液悬浮 100 万至 500 万细胞，置于 15ml 离心管内。

b. 用 CFDA SE 细胞标记液稀释 CFDA SE 储存液(1000X)至 2X。例如取 2 微升 CFDA SE 储存液(1000X)至 1ml CFDA SE 细胞标记液中，混匀后即为 CFDA SE 储存液(2X)。

c. 把 1ml CFDA SE 储存液(2X)加入到步骤 2. a 中含有 1ml 待标记细胞的 15ml 离心管内，轻轻混匀。

d. 37℃孵育 10 分钟。

e. 立即在 15ml 离心管内加入约 10ml 完全细胞培养液(含血清)，室温颠倒数下混匀。

f. 室温离心去上清，再用 5-10ml 完全细胞培养液洗涤一次。

g. 再加入 5-10ml 完全细胞培养液，37℃孵育 5 分钟，以促进 CFDA SE 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。

h. 随后即可按照细胞的正常培养方法进行培养。可以在荧光显微镜下直接观察标记效果，也可以在培养适当时间后用流式细胞仪检测细胞增殖，或用于特定目的细胞示踪。标记的细胞也可以用于活体动物的移植，并用荧光进行示踪。标记的细胞呈绿色荧光。

注意事项

1、CFDA SE 配制成储存液后宜在一个月内使用完毕，最长不宜超过 2 个月。CFDA SE 易被水解，在水溶液中会很快变质。请在使用过程中避免接触水。在标记细胞的过程中和水接触是在许可的范围内的。

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、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、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。

5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。