

CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒

产品编号：MA0697 规格：500T/1000T

产品内容

产品组成	MA0697-1 (500T)	MA0697-2 (1000T)
CFDA SE 荧光探针	1 管	1 管×2
CFDA SE 溶剂	1 mL	1 mL×2
细胞染色缓冲液 (5×)	200 mL	200 mL×2
说明书	1 份	1 份

产品简介

CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒基于一种新型荧光探针 CFDA SE (Carboxyfluorescein diacetate, succinimidyl ester)，用于检测细胞增殖和细胞荧光示踪。

该试剂盒的主要工作原理为：CFDA SE 是二乙酸荧光素 (FDA) 的衍生物，是一种可穿透细胞膜的荧光染料，其本身不具有荧光发光性，当通过被动运输进入活细胞后，可被胞浆内的酯酶催化生成羧基荧光素琥珀酰亚胺酯 (CFSE)，可发出强烈的绿色荧光，共价结合的荧光分子很少从细胞内脱落。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，因此通过流式细胞仪检测，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 可检测细胞分裂次数多达八次甚至更多。经 CFDA SE 标记的非分裂细胞的荧光非常稳定且均一，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 标记细胞呈绿色荧光， $E_x=492\text{ nm}$ ， $E_m=517\text{ nm}$ ，用荧光显微镜和流式细胞仪进行均一染色的细胞示踪观察，可以应用到免疫学的多个领域。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等。

使用方法

(一) 样品准备：

提前一天准备好生长状态良好的细胞或动物。充分解冻并混匀试剂盒中的各种溶液，实验过程中佩戴口罩和手套，避免不当操作引起污染。

(二) 标记前准备：

(1) CFDA SE 储存液 (1000×) 的配制：将 CFDA SE 荧光探针管短暂离心，确保粉末离至管底，取 1mL CFDA SE 溶剂加入到 CFDA SE 荧光探针中，涡旋溶解并混匀。配制好的 CFDA SE 储存液为 1000×，-20℃或-70℃避光保存。

【注】CFDA SE 储存液如果用量少，可适当分装，避免反复冻融。CFDA SE 储存液对光敏感，请用棕色试剂管进行分装和保存。-20℃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。



(2) CFDA SE 细胞染色缓冲液 (1×) 的配制：准备适量无菌的超纯水，根据实验需要配制适量的 CFDA SE 细胞染色缓冲液 (1×)。例如：取 1mL CFDA SE 细胞染色缓冲液 (5×)，加入 4mL 无菌超纯水，混匀后即为 CFDA SE 细胞染色缓冲液 (1×)。配制好的 CFDA SE 细胞染色缓冲液 (1×) 可以 4℃ 保存，长时间不用可以 -20℃ 保存。

(三) 标记：

(1) 在 15 mL 离心管中收集 100 万至 500 万个细胞，加入 1 mL CFDA SE 细胞染色缓冲液 (1×) 将管内细胞重悬。

(2) 用 CFDA SE 细胞染色缓冲液 (1×) 稀释 CFDA SE 储存液至 2×。例如：取 2 μL CFDA SE 储存液 (1000×) 至 1 mL CFDA SE 细胞染色缓冲液 (1×) 中，混匀后即为 CFDA SE 储存液 (2×)。

(3) 将 1 mL CFDA SE 储存液 (2×) 加入到步骤 (1) 中含有 1 mL 待标记细胞的 15 mL 离心管内，轻轻混匀。

(4) 37℃ 孵育 10 min。【注】不同细胞需要自行摸索最佳孵育时间。

(5) 在 15 mL 离心管内加入约 10 mL 完全细胞培养液，室温颠倒数下混匀，250-500×g，3 min 离心去上清。

(6) 用 5-10 mL 完全细胞培养液洗涤一次，250-500×g，3 min 离心去上清。

(7) 加入 5-10 mL 完全细胞培养液，37℃ 孵育 5 min，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。250-500×g，3 min 离心去上清，完成最后一次洗涤。

(8) 用适当体积的完全细胞培养液重悬细胞沉淀，随后即可按照细胞的正常培养方法进行培养。

(四) 检测：

可以在合适的时间点，直接用荧光显微镜观察标记效果；也可以在培养适当时间后用流式细胞仪检测细胞增殖。或将标记后的细胞移植到活体动物，用荧光进行示踪。

标记的细胞呈绿色荧光；激发波长 $E_x=492\text{ nm}$ (荧光 FITC 滤片/488nm 流式激发光)，发射波长 $E_m=517\text{ nm}$ 。

保存条件

-20℃ 保存，自生产之日起 12 个月有效。其中 CFDA SE 荧光探针需要干燥避光保存。

注意事项

1. 所有试剂在使用前均需彻底解冻、混匀，混匀过程中尽量避免产生气泡；CFDA SE 溶剂在较低温度下会凝固，请于 20-25℃ 水浴片刻至全部融化后再使用。
2. 试剂中含有荧光染料，保存或进行标记时尽量避光操作，以避免荧光淬灭问题。
3. 不同细胞的内酯酶活性不同，因此染色效果具有差异性。可根据细胞类型及培养条件摸索最佳工作浓度。
4. 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。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

Y240101

