



CFSE 细胞增殖与毒性检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
DW0059	CFSE 细胞增殖与毒性检测试剂盒	100T

产品介绍:

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, $E_x=494\text{ nm}$, $E_m=521\text{ nm}$, 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。

操作方法:

1. CFDA, SE 储存液 (1000 \times) 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 \times 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 $\leq -20^\circ\text{C}$ 避光干燥保存, 避免反复冻融, -70°C 避光保存可适当延长保存周期。

2. 2 \times CFDA, SE 工作液的配制

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

a. 离心收集细胞, 利用 1 mL 1 \times 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;

b. 把 1 mL CFDA, SE 工作液 (2 \times) 加入到上述 15 mL 离心管内, 轻轻混匀。

c. 37 $^\circ\text{C}$ 孵育 10 min。

注意: 对于不同细胞, 需要自行摸索最佳标记时间。

d. 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。

e. 室温离心去上清, 再用 5-10 mL 完全细胞培养液洗涤一次。

f. 再加入 5-10 mL 完全细胞培养液, 37 $^\circ\text{C}$ 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。



多沃生物

Dowobio Biotechnology Co., Ltd



g. 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。

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°C、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°C 水浴温育片刻至全部溶解后方可使用。

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。

本产品文章中的写法：

英文：Dowobio (Shanghai, China)

中文：上海多沃生物科技有限公司 Dowobio, 上海