

CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒

货号: PMK1905

保存: -20℃避光保存 12 个月

规格: 2000T

适用样本: 细胞

产品简介

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, 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。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 2000 个样品。

产品内容

试剂盒组分	规格	储存条件
	2000T	
CFDA SE	1 管	-20℃, 避光保存
CFDA SE 溶剂	1mL×2 管	-20℃
CFDA SE 细胞标记液 (10×)	100mL×2 瓶	-20℃

自备耗材

流式细胞仪或荧光显微镜、离心机、水浴锅
离心管、可调节式移液枪及枪头
细胞培养级纯水、完全细胞培养液

试剂准备

注意: 各组分 (小管试剂) 开盖前, 请先低速离心。

产品说明书

1. CFDA SE 储存液(1000×)的配制：用试剂盒中所带的共 2ml CFDA SE 溶剂溶解 CFDA SE，即可配制成 CFDA SE 储存液(1000×)。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。具体的操作步骤如下：取 1mL CFDA-SE 溶剂加入到 CFDA SE 中，充分溶解后取 0.5mL 至原 1mL CFDA-SE 溶剂管子中，再从另外一管 CFDA SE 溶剂中取 0.5mL 至该管中并混匀；取另外的 0.5mL CFDA SE 至另外一管 0.5mL 的 CFDA SE 溶剂管中并混匀。配制好的两管 CFDA SE 储存液均为 1000×，-20℃避光保存，最好能-80℃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。-80℃避光保存可以适当延长使用时间。
2. 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。

注意事项

1. CFDA SE 溶剂在 4℃、冰浴等较低温度情况下会凝固，可以 20-25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。
2. 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。CFDA SE 配制成为储存液后宜在一个月内使用完毕，最长不宜超过 2 个月。
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。

实验步骤

1. 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。
2. 用 CFDA SE 细胞标记液稀释 CFDA SE 储存液(1000×)至 2×。例如取 2 微升 CFDA SE 储存液(1000×)至 1mL CFDA SE 细胞标记液中，混匀后即为 CFDA SE 储存液(2×)。
3. 把 1mL CFDA SE 储存液(2×)加入到步骤 1. 中含有 1mL 待标记细胞的 15mL 离心管内，轻轻混匀。
4. 37℃孵育 10 分钟。
5. 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。
6. 室温离心去上清，再用 5-10mL 完全细胞培养液洗涤一次。
7. 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。
8. 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。

相关产品：

PMK0990 活细胞示踪试剂盒（绿色荧光）
PMK0989 Calcein-AM/PI 活/死细胞双染色试剂盒
PMK0991 细胞周期染色试剂盒
PMK0992 EdU-488 法细胞增殖成像检测试剂盒
PMK0993 EdU-555 法细胞增殖成像检测试剂盒

更多产品详情了解，请关注公众号：

