

CFSE 细胞增殖与示踪检测试剂盒

CFSE Cell Proliferation and Tracking Kit

说明书修订日期：2015.07.13

Cat number: KGA318/KGMP010

Store at -20℃ for 6 months

For Research Use Only（科研专用）

一、试剂盒说明

CFSE细胞增殖与示踪检测试剂盒(CFSE Cell Proliferation Assay and TrackingKit)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C29H19NO11，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。CFSE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。

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。

二、试剂盒组份

组 份	Cat: KGA318 1000 assays	Cat:KGMP010 2000 assays	储存条件
CFDA SE储液	100uL/管	200uL/管	-20℃，避光
CFDA SE溶剂	1mL/管	2mL/管	-20℃
CFDA SE细胞标记液(10X)	100mL/瓶	100mL/瓶×2	2-8℃

三、试剂盒以外自备仪器和试剂

流式细胞仪或荧光显微镜、低速离心机、微量移液器、载玻片、盖玻片（荧光显微镜观察需用）

四、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. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

五、操作方法

1. 检测前的准备：

a. CFDA SE 储存液配制：用试剂盒中所带的共1ml CFDA SE 溶剂，取0.9mL加入至CFDA SE 储液管中，即可配制成CFDA SE 储存液(2000X, **KGA318: 1000T, KGMP010: 2000T**)。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。

配制好的CFDA SE 储存液均为2000X，-20℃避光保存，最好能-70℃避光保存。 -20℃避光保存宜在一个月內使用完毕，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(2000X)至2X。例如取1微升CFDA SE 储存液(2000X)至1mlCFDA SE 细胞标记液中，混匀后即为CFDA SE 储存液(2X)。

c. 把1mlCFDA 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℃培养箱中，避光孵育15~30分钟。

e. 离心后去上清，加入2 ml PBS（不含钙镁离子）溶液，再离心后去上清，重复此操作一次。

f. 加入合适的培养基制成细胞悬液。

g. 取500 μl的细胞悬液加在培养孔中，用荧光显微镜观察，看到荧光后，根据自己实验的要求调整细胞数量进行实验。

注意：标记的细胞呈绿色荧光，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。

凯基相关产品（详见凯基网站 www.keygentec.com.cn）

细胞株、细胞提取物及细胞培养产品

细胞凋亡

一、细胞凋亡研究试剂盒

二、细胞凋亡相关抗体

三、凋亡诱导剂、抑制剂

四、氧化应激损伤检测试剂盒

五、细胞凋亡研究辅助试剂

细胞增殖/毒性/活力与细胞周期

细胞染色产品

亚细胞组分制备