CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒

产品介绍

CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒是基于 CFDA SE 对细胞进行增殖及示踪检测的试剂盒，本试剂盒由 CFDA SE 粉末、溶剂及染色缓冲液组成。

CFDA SE 是二乙酸荧光素（Fluorescein diacetate, FDA）的衍生物，具有细胞膜渗透性，本身不具有荧光发光性，当 CFDA SE 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），发出强烈的绿色荧光并且不能再穿透细胞膜，能完好地保留在胞内。CFSE 还可自发并不可逆地与细胞内的氨基共价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很均一。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。CFDA 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和 NK 细胞等其他细胞的增殖检测。

CFDA SE 标记细胞呈绿色荧光，除了流式细胞仪检测细胞增殖外，还可用荧光显微镜进行均一染色的细胞示踪观察。

应用范围

细胞增殖检测、荧光示踪

产品货号

C6034S/C6034L

储运条件

-20℃避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

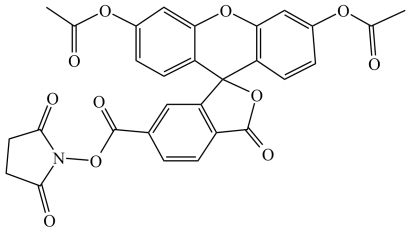
稳定性强：荧光亮度强且发光时间久，不易淬灭；
使用方便：可搭配我司其它试剂使用，方便灵活。

产品组别

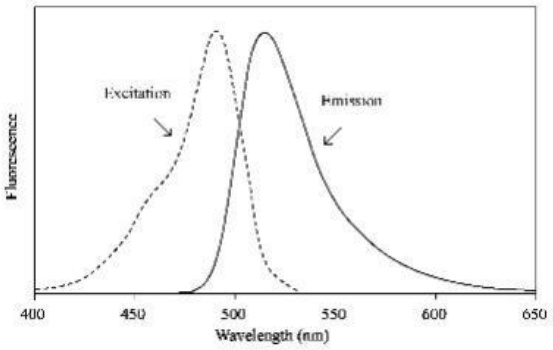
组分	C6034S (20 T)	C6034L (500 T)
A. CFDA SE	1 管	1 管×5
B. CFDA SE 溶剂	20 μL	500 μL
C. 10×CFDA SE Buffer	1 mL×2	50 mL

产品参数

Ex/Em：418/515 nm
CAS号：150347-59-4
分子式：$C_{58}H_{38}N_2O_{22}$
分子量：557.46
分子结构式：



光谱图：



注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
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。
3. 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，可以 20~25°C 水浴温育片刻至全部融解后方可使用。
4. 本试剂盒对 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，培养条件以及应用方向来梯度摸索最佳的工作浓度及染色时间。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。
5. 荧光染料均存在淬灭问题，操作过程中请注意避光，以减缓荧光淬灭。
6. 本产品仅限于科研，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。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤

1. 试剂准备

(1)CFDA SE 储液的配制：取 1 管试剂盒中提供的 CFDA SE 恢复至室温，瞬时离心，使粉末充分沉降至管底，向其中加入 100 μL CFDA SE 溶剂（C6034S 加入 20 μL CFDA SE 溶剂），充分溶解，即可配制成 CFDA SE 储液（1000×）。配制好的 CFDA SE 储液，-20℃避光保存，有效期两个月。-70℃避光保存可适当延长使用时间。

(2)CFDA SE Buffer 的配制：用细胞培养级无菌水按需稀释 10×CFDA SE Buffer 至 1×。配制好的 1×CFDA SE Buffer，可以 4℃保存，长期不用可以-20℃储存。

2. 标记和检测

(1)离心收集细胞，用 1 mL 1×CFDA SE Buffer 重悬细胞于 15 mL 离心管中，调整细胞浓度为 1~5×10^6 cells/mL。

(2)CFDA SE 工作液的配制：将 CFDA SE 储液（1000×）用 1×CFDA SE Buffer 稀释至 2×。

(3)染色：将 1 mL CFDA SE 工作液（2×）加入 1 mL 待标记的细胞悬液中，上下颠倒混匀，37℃孵育 10 min。

本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

(4)立即向离心管中加入 5 倍体积预热的完全培养基（含血清），上下颠倒混匀以终止标记反应。
(5)1000 rpm，5 min 室温离心去上清，再用 5~10 mL 完全培养基洗涤一次。
(6)再加入 5~10 mL 完全培养基，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。1000 rpm，5 min 室温离心去上清，完成最后一次洗涤。
(7)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，呈绿色荧光。标记的细胞也可用于活体动物的移植，并进行荧光示踪。
注：1)若需要对细胞进行固定，请用醛类固定剂如 4%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。
2) 对于不同细胞，CFDA SE 的最佳标记浓度和孵育时间是不同的，初次实验可按照实验步骤进行，若效果不佳，建议调整染色浓度以及孵育时间，获得最佳标记效果。

FAQ

1. 问：CFDA SE 细胞标记液的配制是必须用纯水，还是用 PBS 就可以？
答：必须用细胞培养级纯水。
2. 问：CFDA SE 能否用于干细胞的增殖检测？
答：CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒可以用于各种常见细胞的增殖和示踪检测，包括干细胞、神经细胞等。
3. 问：用肝素全血做淋转，可以用 CFDA SE 标记吗？具体步骤跟这个一样吗？
答：肝素全血做淋转相关实验建议参考文献资料确定，UE 暂时没有相关步骤可以提供，目前该探针主要用于细胞增殖的标记。
4. 问：尝试在悬浮状态下标记细胞，并通过 CFDA SE 标记来追踪它们，但标记后它们将不再粘附在表面上（而未标记的细胞粘附良好），试过在 10 和 20 μM 处标记，这是什么原因造成的？
答：这种染料将通过伯胺与蛋白质结合，浓度过高会导致细胞毒性或细胞功能的意外改变。解决方案是减少浓度或染色时间，或使用非蛋白结合追踪试剂。

同系列产品

产品货号	产品名称
C6034	CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒
C4070	5(6)-CFDA, SE（5(6)-羧基荧光素二乙酸，琥珀酰亚胺酯）
C4037	5(6)-CFDA（5(6)-羧基二乙酸荧光素）
C4039	6-CFDA（6-羧基二乙酸荧光素）
C4069	6-CDCFDA SE（6-羧基-2',7'-二氯荧光素二乙酸，琥珀酰亚胺酯）
C4043	6-CDCFDA（6-羧基-2',7'-二氯荧光素二乙酸酯）

本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。