CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒

货号: KTA6010　　规格：200 T×5/200 T×10　　批号：见产品标签

	应用实验：流式细胞术/荧光显微镜/荧光酶标仪
	荧光激发/发射波长：CFDA SE: Ex/Em=494/521 nm
	保质期：-20℃避光保存 12 个月

01 背景与原理

5(6)-CFDA, SE 是一种可对活细胞进行荧光标记的细胞示踪染料，不仅可用于细胞增殖的体外实验，还可用于追踪细胞在体内的分裂增殖过程。5(6)-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。当通过被动运输穿透细胞膜进入活细胞后，被胞浆内的酯酶催化生成羧基荧光素琥珀酰亚胺（carboxyfluoresceinsuccinimidyl ester，CFSE），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 5(6)-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 5(6)-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。

5(6)-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。5(6)-CFDA, SE 可检测分裂次数多达八次甚至更多。经 5(6)-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。 5(6)-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。5(6)-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。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	200 T×5	200 T×10	
CFDA SE	Powder×5 vials	Powder×10 vials	-20℃，避光保存
DMSO	1 mL	1 mL×2	RT
Assay Buffer (10×)	50 mL×2	100 mL×2	4℃

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	流式细胞术/荧光显微镜/荧光酶标仪/离心机	Ex/Em=494/521 nm
耗材	细胞培养孔板	/
试剂	磷酸盐缓冲液（PBS，pH7.4）	配液、清洗
其他	可调节式移液枪及枪头	/

04 注意事项

- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。
- 使用前请将 CFDA SE 瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 本试剂盒对 CFDA SE 染色浓度做了优化处理，也可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。
- 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。
- 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓淬灭。
- 若后续需要进行抗体标记，可进行固定和透化。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
CFDA SE Storage Solution	临用前配制，每管 CFDA SE 加入 200 μL DMSO 溶解制备 CFDA SE Storage Solution。	-20℃避光保存，宜尽快使用，最长保存时间不宜超过 2 个月。
1×Assay Buffer	用细胞培养级无菌水将 Assay Buffer (10×)稀释 10 倍得到 1×Assay Buffer。	4℃保存
Stain Solution	临用前配制，每 1 mL Assay buffer 加入 1 μL 的 CFDA SE Storage Solution，混匀，使用前避光并预热至 37℃。	未使用完的不可保存

05-2 实验步骤

05-2-1 流式细胞仪/荧光酶标仪分析

(1) 对于悬浮细胞，通过离心（4℃，300 g，5 min）收集细胞。用 PBS 洗涤两次，并丢弃 PBS。 对于贴壁细胞，首先使用胰蛋白酶（不含 EDTA）消化细胞，然后离心，用 PBS 清洗两次，弃上清；

注意：需准备悬浮在 Assay Buffer 的细胞样本，用于流式细胞检测时的阴性对照。

(2) 用 1 mL 37℃预热的 Stain Solution 重悬细胞 1-5×10^6 细胞，37℃避光孵育 10-30 min，不同细胞最佳孵育时间有所不同。

(3) 孵育完成后，300 g 离心 5 min 收集细胞。每个样品加入 1 mL 预热的完全培养基，轻轻重悬 37℃孵育 5-10 min，300 g 离心 5 min 收集细胞。

(4) 用 PBS 洗涤细胞两次，随后即可按照正常培养方法培养细胞或用流式细胞仪或荧光酶标仪直接检测（CFDA SE 为绿色荧光，Ex/Em=494/521 nm，推荐 FITC 通道）。

05-2-2 荧光显微镜分析

1. 对于悬浮细胞:

(1) 按照流式细胞分析步骤制样。

(2) 将染色好的细胞悬浮置于玻片上，用盖玻片盖住细胞，通过荧光显微镜分析细胞。

2. 对于贴壁细胞，按照以下操作步骤（以 24 孔板为例）：

(1) 在合适的孔板上培养细胞，在 CO_2 细胞培养箱中 37℃培养至少 24 h，再进行后续实验；

(2) 除去培养基，用 PBS 洗涤细胞 2 次。

(3) 加入适当体积 37℃预热的 Stain Solution 到细胞中，通常 96 孔板每孔加入 100 µL，24 孔板每孔加入 250 µL，12 孔板每孔加入 500 µL，6 孔板每孔加入 1 mL，37℃避光孵育 10-30 min，不同的细胞最佳孵育时间有所不同；

(4) 孵育结束后，更换成新鲜的 37℃预热的培养液，37℃再避光孵育 5-10 min；

(5) 用 PBS 清洗 2-3 次，即可在荧光显微镜下观察（CFDA SE 为绿色荧光，Ex/Em=494/521 nm）。

06 结果示例

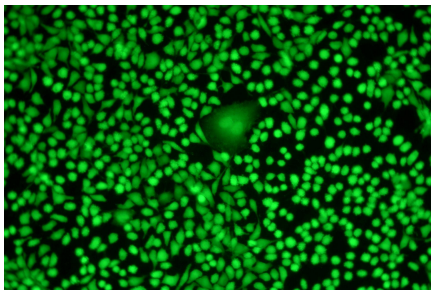


Figure 1. L929 细胞用 CFDA SE 细胞增殖与示踪检测试剂盒染色结果。

07 FAQ

1．该试剂盒做活细胞染色后，要是细胞发生凋亡，那它原来的荧光会消失吗？

正常情况下信号会减弱，但不会消失。

2．该试剂盒可以检测共培养细胞的中单一细胞的增殖情况吗？

目前该试剂盒不能检测共染的单一细胞，可能会全部染色。

3．该试剂盒是否可用于细菌染色？ 具体怎么操作？

该试剂盒目前没有做过细菌样本的验证，不确定效果。

4．该试剂盒能否用于动物干细胞的增殖检测？

可以用于干细胞增殖检测。

5．如果用该试剂盒做细胞示踪，荧光大概能维持多长时间？

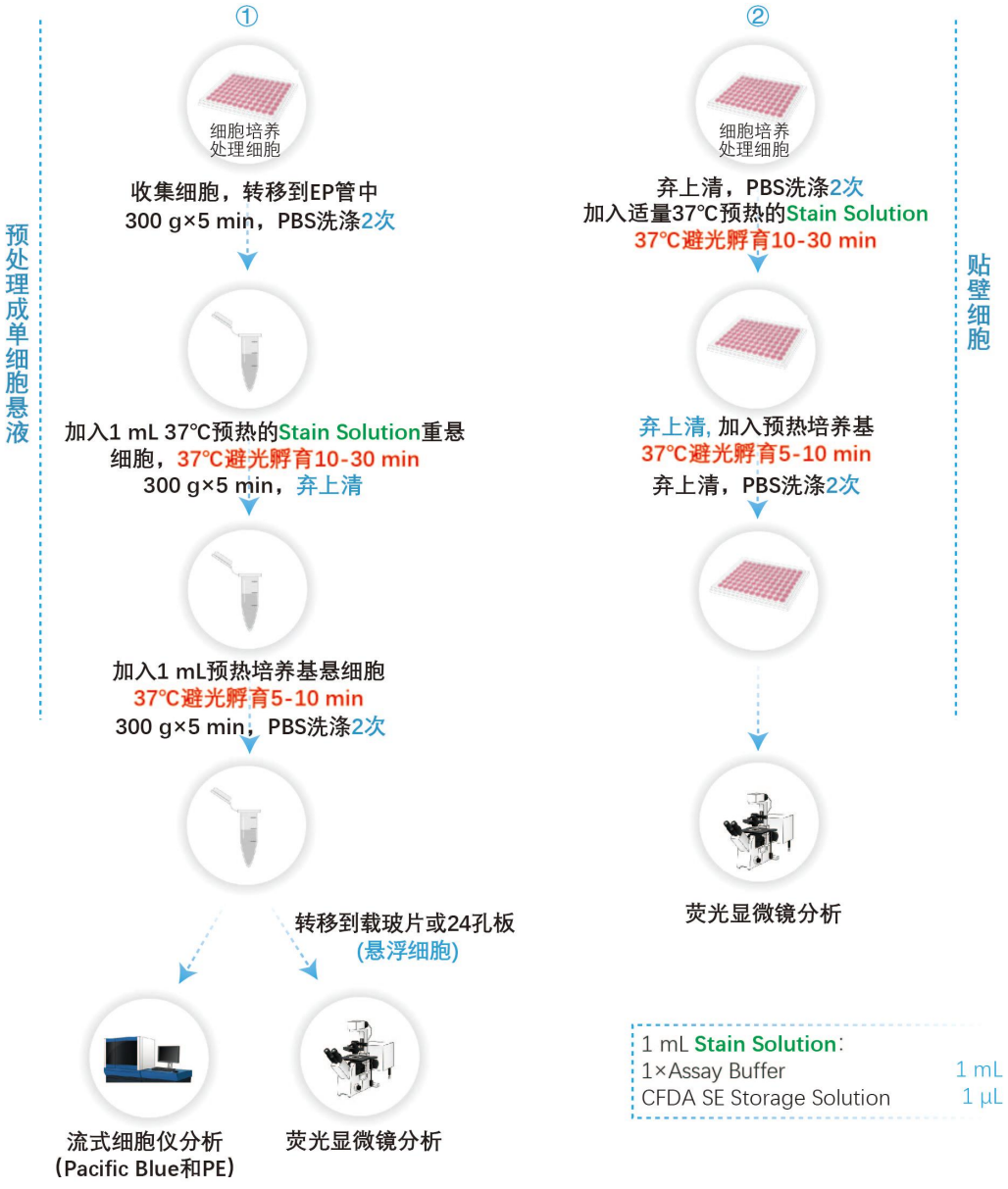
荧光强度及维持时间因细胞分裂速度和细胞内酯酶活性不同有差异。

6．Assay Buffer (10×)稀释必须用纯水吗？

必须用细胞培养级纯水，不可使用 PBS 代替。

08 相关产品

货号	试剂盒名称
BMU106-CN	SuperKine™ 超敏型细胞增殖检测试剂（CCK-8）
KTA2030	EdU 法细胞增殖成像分析试剂盒（绿色荧光）
KTA2010	一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒（绿色荧光）
KTA0006	Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒
KTA0002	Annexin V-AbFluor™ 488/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒
KTA2010	一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒（绿色荧光）
KTA2011	一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒（红色荧光）

CFDA SE细胞增殖与示踪检测试剂盒

（Abbkine 货号 ： KTA6010）