

## 活细胞示踪试剂盒（绿色荧光）

货号: KTA1002

规格: 100 T/500 T/2000 T

批号: 见产品标签

|                                                                                   |                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
|  | 应用实验: 流式细胞术/荧光显微镜                                  |
|                                                                                   | 荧光激发/发射波长: Cell Tracker Green: Ex/Em=494 nm/521 nm |
|  | 保质期: -20℃避光保存 12 个月                                |

## 01 背景与原理

研究细胞运动和定位，需要用到对活细胞无毒的专一性探针。Live Cell Tracking Kit 提供了一种通用且保存良好的细胞跟踪试剂（Cell Tracker Green），用于监测细胞的移动，位置，增殖，迁移，趋化性和侵袭性。

Cell Tracker Green 是一种活细胞荧光示踪探针，可以通过被动扩散进入细胞，与细胞内蛋白共价结合，是一种长效细胞示踪染料。一旦进入细胞，非荧光性的 Cell Tracker Green 会被胞内酯酶水解，产生绿色荧光（Ex/Em=494 nm/521 nm）。这些荧光产物只能积聚在具有完整细胞膜的细胞中，因此死细胞和无完整细胞膜不能被染色。Cell Tracker Green 对 pH 变化不敏感，可以由甲醛或戊二醛固定。Cell Tracker Green 探针可以在活细胞中保留好几代，并可以显示荧光至少一周。探针可被转移到子细胞，但是不转移到群体中的相邻细胞。

## 02 包装清单

| 试剂盒组分                      | 规格         |             |        | 储存条件     |
|----------------------------|------------|-------------|--------|----------|
|                            | 100 T      | 500 T       | 2000 T |          |
| Cell Tracker Green         | 50 $\mu$ L | 250 $\mu$ L | 1 mL   | -20℃避光保存 |
| Assay Buffer (5 $\times$ ) | 5 mL       | 10 mL       | 40 mL  | 4℃       |

## 03 自备仪器与试剂

| 自备资源类型 | 资源名称                    | 备注           |
|--------|-------------------------|--------------|
| 仪器     | 流式细胞仪/荧光显微镜             | 流式推荐 FITC 通道 |
| 耗材     | 吸头，载玻片                  | /            |
| 试剂     | 磷酸盐缓冲液（PBS, pH7.4），去离子水 | 清洗           |
| 其他     | 离心机、移液枪                 | /            |

04 注意事项

- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

| 试剂名称               | 试剂准备                                                                                             | 注意事项          |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Cell Tracker Green | 即用型；冰上操作。                                                                                        | 避光分装保存，避免反复冻融 |
| 1×Assay Buffer     | 即用型；用去离子水把 5×Assay Buffer 稀释到 1×Assay Buffer。使用前加热到 37℃。                                         | 稀释后不可保存       |
| Staining Solution  | 即用型；实验开始之前，将 Cell Tracker Green 以 1:1000 的比例稀释到 1×Assay Buffer 中。相应地扩大剂量以进行大样本量测定。使用前避光并预热至 37℃。 | 避光保存；稀释后不可保存  |

注意：对于不同的细胞类型和/或实验条件，应根据经验确定 **Cell Tracker Green** 的最终浓度。通常，长期染色（超过约 3 天）或对于快速分裂的细胞可以将染料浓度加倍。对于较短的实验（例如生存力测定），可能需要使用浓度低至 1:5000 稀释的染料。为了维持正常的细胞生理状态并减少潜在的伪影，应将染料的浓度保持在尽可能低的水平。

05-2 实验步骤

05-2-1 流式细胞仪分析

- (1) 用所需的方法处理细胞，并建立平行对照组；

注意：平行对照组建议：未染色的细胞（即不加 **Cell Tracker Green** 的细胞），用 **1×Assay Buffer** 悬浮。

- (2) 对于非贴壁细胞，通过离心（4℃，300 g，5 min）收集 0.5-1×10<sup>6</sup> 个细胞。用预冷的 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；
- (3) 将细胞沉淀重悬于 500 μL Staining Solution 中；
- (4) 37℃ 避光孵育 15-30 min；
- (5) 以 300 g 离心细胞，并弃去上清液；
- (6) 沉淀重悬在新鲜的预热培养基中，再孵育细胞 30 min，以确保与探针完全接触，并再次用 PBS 洗涤细胞；
- (7) 以 0.5-1×10<sup>6</sup> 细胞/mL 的密度将细胞沉淀重悬在预热的 PBS 中，并立即使用流式细胞仪分析（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。尽快使用适当的滤镜通过荧光显微镜分析细胞。也可以按照 05-2-2 中第 3 节进行细胞固定和透化。
2. 对于贴壁细胞，按照以下操作步骤（以 24 孔板为例）：

- (1) 用 24 孔培养皿直接培养细胞。染色前，在 37℃ 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养至少 24 h；
- (2) 用所需的方法处理细胞；
- (3) 除去培养基，用 PBS 洗涤细胞 2 次。
- (4) 向细胞中加入 0.5 mL Staining Solution，并在黑暗中于 37℃ 孵育 15-30 min；
- (5) 弃去上清液，换上预热的新鲜生长培养基，然后在黑暗中于 37℃ 下再孵育 30 min；
- (6) 用 PBS 或适当的缓冲液洗涤细胞两次。也可以按照 05-2-2 中第 3 节进行细胞固定和透化。
- (7) 使用合适的滤光片进行观察。

3. 固定和透化

- (1) 使用含醛的固定剂进行固定。通常，我们使用 3.7% 甲醛在室温下将细胞固定 15 min；
- (2) 固定后，用 PBS 洗细胞 3 次；
- (3) 固定后，如果随后要用抗体检测细胞，应将其在冰冷的丙酮中孵育 10 min 以使细胞通透，通透后，用 PBS 洗细胞 3 次。

06 结果示例

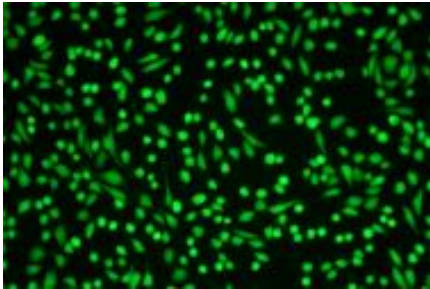


Figure 1. L929 细胞用 Cell Tracker Green 活细胞示踪试剂盒（绿色荧光）染色。

07 FAQ

1 . 该探针染细胞是否有细胞特异性？

该染料是亲脂性染料，是通过插入到脂质膜中进而被激光激发观察，对于动植物细胞没有特异性。

2 . 探针染色细胞后，对细胞有毒性吗？

荧光探针类产品对活细胞都会有一定的毒性，因此建议在染色处理完成后应尽快完成检测和观察。

3 . 染色后发现荧光颜色较浅

可适当延长染色时间和浓度。

08 相关产品

| 货号      | 试剂盒名称       |
|---------|-------------|
| KTA2020 | 细胞周期染色分析试剂盒 |
| KTA1001 | 活/死细胞双染色试剂盒 |

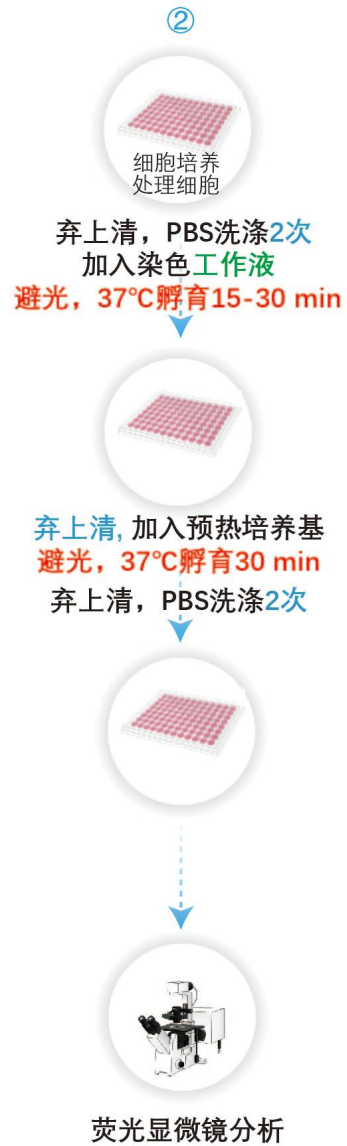
# 活细胞示踪试剂盒（绿色荧光）

(Abbkine 货号：KTA1002)

预处理成单细胞悬液



贴壁细胞



500 μL工作液：  
1×Assay Buffer  
Cell Tracker Green

500μL  
0.5μL