

## CFDA SE Cell Tracer Kit

### 1. 产品描述

CFDA SE Cell Tracer Kit 是对细胞进行荧光示踪及细胞增殖检测的试剂盒。CFDA SE 全称为 Carboxyfluorescein diacetate, succinimidyl ester, 具有细胞膜通透性。CFDA SE 本身不发光, 进入活细胞后可以被细胞内的酯酶催化分解成 CFSE, CFSE 可发强烈的绿色荧光, 不能穿透细胞膜, 能完好的保留在细胞内。CFSE 可以偶发性地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, 从而标记上这些蛋白。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匀和稳定, 荧光可平均分配至两个子代细胞中, 这样每分裂一次子代细胞的荧光会减弱一半, 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)以及类似的更多分裂次数的细胞。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, 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, Ex=494 nm, Em=521 nm。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 标记的细胞可用于体外和体内增殖研究, 且都不会使邻近细胞染色。

### 2. 产品信息

货号	产品名称	规格
K1023	CFDA SE Cell Tracer Kit	1 kit

产品组分和储存:

组成成分	数量	储存	稳定性
CFDA SE	10 瓶, 1 mg/瓶, 冻干粉	≤-20°C; 干燥保存; 避免光照和潮湿; 避免反复冻融。	按指示储存时, 试剂盒至少可稳定保存 6 个月。
DMSO	2 ml		

### 3. 使用方法

#### (1) 工作液配制

1) 储存液配制: CFDA SE 以粉末形式提供, 开盖前需要经过瞬时离心。如果产品是从冰箱中取出则需要先置于室温进行回温。取 1 管 CFDA SE 粉末(1 mg), 加入 180 μL 无水 DMSO, 室温颠倒混匀使其充分溶解, 即得到浓度为 10 mM 的储存液。配制好的溶液宜尽快使用完

毕，不宜长时间保存。注意：CFDA SE 遇水容易分解，所以在配置时要用无水 DMSO。

2) 工作液配制：用磷酸盐缓冲液 (PBS) 或其他适宜缓冲液将储存液稀释至所需的工作浓度。工作液浓度通常为  $0.5\sim 25\ \mu\text{M}$ 。使用者可根据自己的实验自行摸索和调整最佳工作浓度。

**【注意】**：实验过程中控制好总体稀释倍数，DMSO 在培养液中的浓度不能超过 0.1%，以避免 DMSO 对细胞的影响。

### (2) 标记贴壁细胞

1) 细胞培养到所需的密度，吸去细胞培养液，加入预热 ( $37^{\circ}\text{C}$ ) 的 CFDA SE 工作液。

2) 在  $37^{\circ}\text{C}$  细胞培养箱孵育细胞 15 分钟。注意：对于不同细胞，需要自行摸索最佳标记时间。

3) 吸去探针工作液，加入新鲜的预热的细胞完全培养液，在  $37^{\circ}\text{C}$  细胞培养箱孵育细胞 30 分钟，以终止标记反应并促进 CFSE【胞内酯酶催化 CFDA SE 得到的荧光产物】在细胞内的驻留及未反应的 CFDA SE 离开细胞进入完全细胞培养液。如果要固定和透化细胞，请继续进行固定和渗透步骤。

### (3) 标记悬浮细胞

1) 离心获得细胞沉淀并吸掉上清液。

2) 将细胞轻轻地在预热的 CFDA SE 工作液中重悬。

3) 在  $37^{\circ}\text{C}$  细胞培养箱孵育细胞 15 分钟。

4) 通过离心沉淀细胞并将其重悬于新鲜的预热的完全培养液中。

5) 在  $37^{\circ}\text{C}$  细胞培养箱孵育细胞 30 分钟，以促进 CFSE 在细胞内的驻留及未反应的 CFDA SE 离开细胞。离心去上清，用完全培养液洗涤细胞。如果要固定和透化细胞，请继续进行固定和渗透步骤。

**【注意】**：若需要对细胞进行固定，请用醛类固定剂如 3.7% 多聚甲醛于室温固定 15 min。固定之前及之后，必须用 PBS 或其他合适的缓冲液洗涤细胞。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。透化后，需要用 PBS 冲洗细胞。

### (4) 可视化细胞

标记好的细胞已可进行后续的体外增殖检测或者特定目的的细胞示踪。按照正常方法培养细胞，然后在合适的时间点用荧光显微镜或流式细胞仪【FL1 通道】进行结果分析，呈绿色荧光。标记的细胞也可用于活体动物的移植，并用荧光进行示踪。

### 注意事项

1) CFDA SE 易被水解，在水溶液中会很快变质。因此保存过程中粉末或者储存液都需干燥保存，工作液当天使用完毕后剩余的建议丢弃；而且使用过程中避免接触水。但在标记细胞的过程中和水接触是在许可范围内的。

2) CFDA SE 溶剂在  $4^{\circ}\text{C}$ 、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，于  $20\sim 25^{\circ}\text{C}$  水浴温育片刻至全部溶解后方可使用。

3) 荧光染料均存在淬灭问题，染色过程请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。

4) 为了您的健康，实验操作时请穿实验服和带一次性手套。