



## Cell-ID™ Violet Cell Proliferation Kit

产品货号：C026

| 产品货号 | 包装规格  |
|------|-------|
| C026 | 200 次 |

储存条件：-20℃，避光保存。

激发/发射波长：405/450 nm（水解产物）

## 产品说明书

晶科德生物科技（武汉）有限公司

Jinkede Biotechnology(Wuhan) Co.,Ltd

邮编：430000

电话：400-662-6996

网址：[www.genecodex-bio.cn](http://www.genecodex-bio.cn)

## Cell-ID™ Violet Cell Proliferation Kit

货号：C026

## 试剂盒组分

| 组分     | 产品名称            | 数量       | 包装   | 储存条件       | 有效期  |
|--------|-----------------|----------|------|------------|------|
| C026 A | Cell-ID™ Violet | 100 nmol | 10 管 | -20°C，避光保存 | 6 个月 |
| C026 B | DMSD            | 500 µl   | 1 管  | -20°C      |      |

## 产品介绍

Cell-ID™ Violet 细胞增殖与示踪检测试剂盒采用一种荧光探针 Cell-ID™ Violet 对细胞做标记用于细胞增殖检测和细胞荧光示踪。Cell-ID™ Violet 可以通透细胞膜，进入细胞后可以被细胞内酯酶的作用下发生水解，产生明亮的蓝色荧光。水解产物可以与细胞内蛋白的 Lysine 残基或其它氨基共价结合，能够长期、稳定地进行细胞示踪。

Cell-ID™ Violet 荧光探针的激发和发射波长分别是 405 nm 和 450 nm。Cell-ID™ Violet 荧光探针标记的细胞可以通过选用 DAPI 滤光片在荧光显微镜下观察，或者选用 405 nm 激发光源通过流式细胞仪进行分析。

## 注意事项

- 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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 实验步骤

以下实验操作步骤仅供参考，由于不同的细胞类型和不同的细胞培养条件，使用者需要根据实际情况对实验进行优化。建议使用 Cell-ID™ Violet 的起始浓度为 1~10 µM。如果需要示踪 5 代或 5 代以上细胞代数的实验，建议使用 5~10 µM 的 Cell-ID™ Violet 浓度；如果只需要示踪 5 代以内的细胞代数，建议使用 1~2 µM 的 Cell-ID™ Violet 浓度。荧光显微镜观察比流式细胞仪检测需要更高的染料浓度。在能够得到足够荧光信号的前提下，尽量使用最低浓度的染料，以降低对细胞的毒性。

做细胞计数的实验时，建议做一个荧光强度与细胞密度的标准曲线，确保所检测的荧光信号是在线性区间内，与细胞数量成正比关系。做细胞传代示踪实验时，需要对新鲜标记的还未分裂的部分细胞样本做流式分析，以确定未分裂细胞的位置和相应的荧光值。

**注意：**Cell-ID™ Violet 染料能与胺基发生反应，所以不能使用含有胺基的缓冲液，比如 Tris-缓冲液，或者含多聚赖氨酸的培养皿或载体玻片。

Cell-ID™ Violet 储存液制备

5 mM Cell-ID™ Violet 储存液制备：取一管 Cell-ID™ Violet 染料管，加入 20 µl 无水 DMSO，摇匀溶解。

Cell-ID™ Violet 工作液制备：在使用之前，用 PBS 或不含胺基的缓冲液将储存液稀释到

一定的工作浓度。

剩余的 Cell-ID™ Violet 储存液请于-80℃保存，最长不宜超过 2 个月。

#### 悬浮细胞标记实验步骤

1.1 离心悬浮细胞，弃上清液。

1.2 加预热 (37℃) 的 Cell-ID™ Violet 工作液重新悬浮细胞。建议使用 1~10 μM Cell-ID™ Violet 浓度的 PBS 缓冲液。

1.3 在 37℃下孵育 20 分钟。

1.4 加入 5 倍体积的含血清细胞培养液，孵育 5 分钟。目的：去除溶液中剩余的荧光染料。

1.5 再次离心悬浮细胞，弃上清液，用预热的细胞培养液重悬细胞。

1.6 在 37℃下孵育至少 10~15 分钟，以确保 Cell-ID™ Violet 充分水解。

1.7 如做细胞计数实验，使用 PBS 或其他类似的缓冲液洗涤细胞。然后转移到 96 孔板，用荧光酶标仪进行细胞定量分析，或制成细胞涂片在荧光显微镜下观察。

1.8 如做细胞传代示踪实验，使用者按照自己的实验设计对细胞进行诱导、孵育或分析，然后使用流式细胞仪进行分析。

#### 贴壁细胞标记实验步骤

2.1 培养盖玻片或 96 孔板上的细胞到合适的生长密度。

2.2 移除培养基，加预热 (37℃) 的 Cell-ID™ Violet 工作液，确保完全覆盖细胞。建议使用 1~10 μM Cell-ID™ Violet 浓度的 PBS 缓冲液。

2.3 在 37℃下孵育 20 分钟。

2.4 使用新鲜的预热的细胞培养基，取代 Cell-ID™ Violet 工作液。

2.5 在 37℃下孵育至少 10~15 分钟，以确保 Cell-ID™ Violet 充分水解。

2.6 如做细胞计数实验，使用 PBS 或其他类似的缓冲液清洗细胞，然后用荧光酶标仪进行细胞定量分析，或在荧光显微镜下观察。

2.7 如做细胞传代示踪实验，使用者按照自己的实验设计对细胞进行诱导、孵育或分析，然后使用胰蛋白酶消化或其他细胞分离方法将细胞分离，再用流式细胞仪分析。

#### 细胞固定和透化 (可选)

3.1 在细胞固定之前，用 PBS 洗涤细胞。

3.2 使用含 4%甲醛的 PBS 溶液在常温下固定 15~20 分钟，注意避光。

3.3 使用 PBS 洗涤细胞。

3.4 如果需要，选用适当的方法对细胞进行透化处理。

3.5 细胞透化后，使用 PBS 洗涤细胞。

实验案例

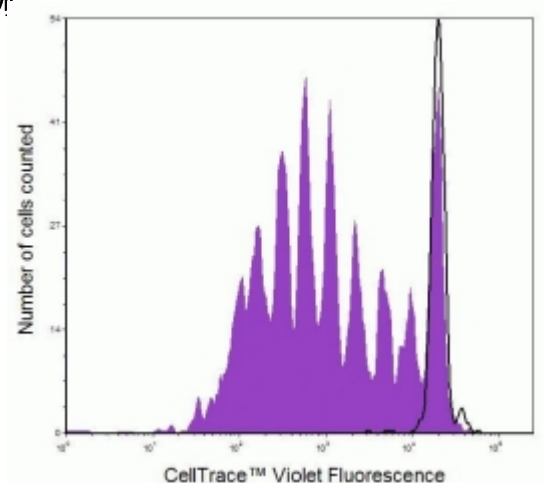


图 1：淋巴细胞标记 Cell-ID™ Violet 的流式细胞仪分析结果图。  
淋巴细胞在第一天使用 Cell-ID™ Violet 荧光染料进行标记。在细胞分裂之前捕获一部分细胞使用鼠抗人 CD3、白细胞介素-2 进行处理，继续培养细胞至第七天，流式细胞仪分析细胞传代情况。连续的峰图代表了使用鼠抗人 CD3、白细胞介素-2 处理的细胞传代情况。最右侧的峰图代表了未分裂细胞的分布图。

