



Cell-ID™ Violet Cell Proliferation Kit

——细胞增殖与示踪检测试剂盒

产品货号	包装规格
A002	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

GeneCopoeia, Inc. 广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城
掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 F 区 8 楼
邮编：510663
电话：4006-020-200
邮箱：sales@igenebio.com
网址：www.abpbio.com www.igenebio.com

© 2015 GeneCopoeia, Inc.

Cell-ID™ Violet Cell Proliferation Kit

产品货号 A002

试剂盒组份:

组份	名称	规格	数量	储存条件	有效期
组份 A	Cell-ID™ Violet	100 nmol	10 管	-20℃, 避光保存	6 个月
组份 B	DMSO	500 μl	1 管	-20℃	

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提前下，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 μ l 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 μ M 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 μ M 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

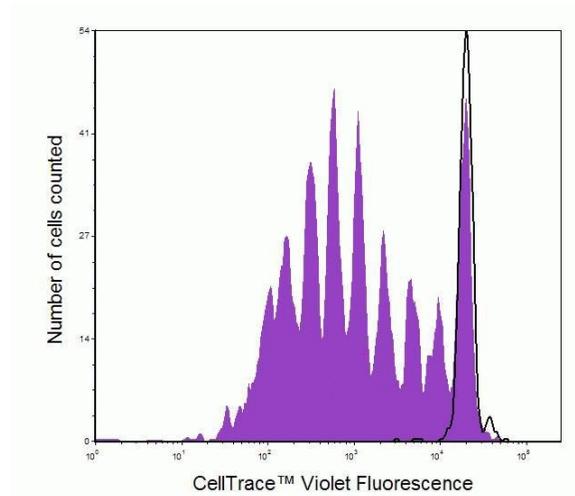


图 1: 淋巴细胞标记 Cell-ID™ Violet 的流式细胞仪分析结果图。

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。

© 2015, GeneCopoeia, Inc.

广州易锦生物技术有限公司
广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路 3 号
广州国际企业孵化器 F 区 8 楼
邮编: 510663
电话: 4006-020-200
邮箱: sales@igenebio.com
网址: www.abpbio.com (英文) www.igenebio.com (中文)