

脂滴绿色荧光检测试剂盒(BODIPY 493/503)

产品编号	产品名称	包装
C2053S	脂滴绿色荧光检测试剂盒(BODIPY 493/503)	100-1000次
C2053M	脂滴绿色荧光检测试剂盒(BODIPY 493/503)	500-5000次

产品简介:

- 碧云天的脂滴绿色荧光检测试剂盒(BODIPY 493/503), 英文名为Lipid Droplets Green Fluorescence Assay Kit with BODIPY 493/503, 也称BODIPY 493/503 Staining Kit或Green Neutral Lipid Stain, 是一种基于绿光探针BODIPY 493/503来检测细胞内脂滴(Lipid droplets)的试剂盒。本试剂盒适用于荧光显微镜、流式细胞仪、荧光酶标仪等荧光检测系统。
- 脂滴是由磷脂单分子层及甘油三酯(Triglyceride)、胆固醇酯(Cholesteryl ester, CE)组成的中性脂肪(Neutral lipid)疏水核心构成, 广泛存在于动物、细菌、酵母、植物和昆虫细胞中[1]。脂滴能够沿着细胞骨架运动, 并与其它细胞器相互作用, 在脂类代谢与存储、膜转运、蛋白降解, 以及信号传导过程中起着重要的作用。多种代谢性疾病, 如肥胖、脂肪肝、心血管疾病及糖尿病、中性脂贮存性疾病和Niemann Pick C疾病等, 可能都伴随着脂质贮存的异常[2]。
- 本试剂盒所使用荧光探针为BODIPY 493/503, CAS号为121207-31-6, 分子量为262.11, 其在磷脂(phospholipid)中最大激发光波长为493nm, 最大发射光波长为503nm。BODIPY 493/503在磷脂中的激发光和发射光光谱参考图1。

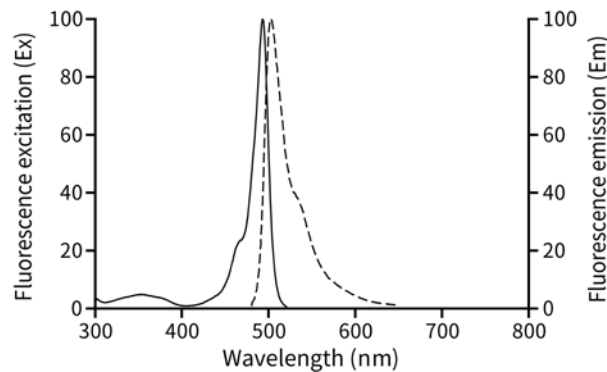


图1. BODIPY 493/503在磷脂中的激发光和发射光光谱。

- 本试剂盒所使用荧光探针BODIPY 493/503在水和其它极性溶剂中几乎无任何荧光, 一旦与甘油三酯等中性脂肪结合便发出明亮的绿色荧光。使用本试剂盒检测细胞内脂滴的效果参考图2。

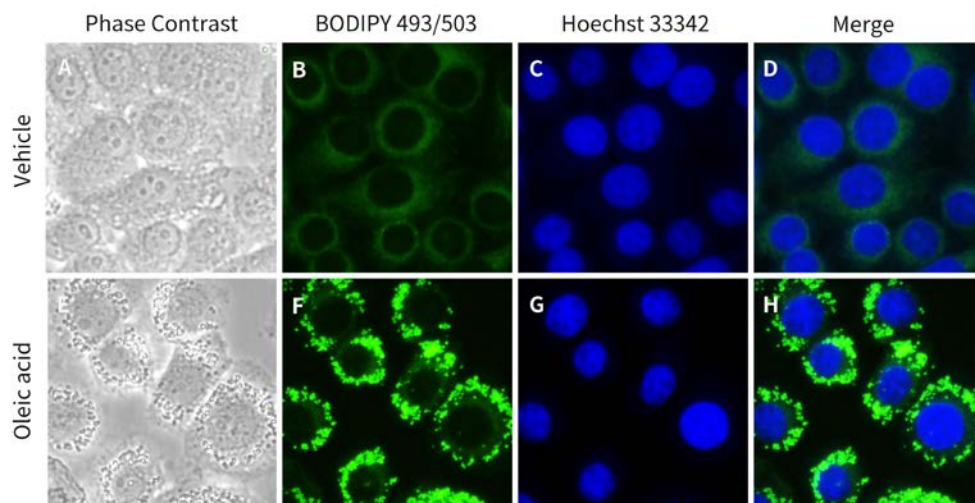


图2. 脂滴绿色荧光检测试剂盒(BODIPY 493/503)检测HeLa细胞内脂滴的效果。图A为正常HeLa细胞在显微镜明场下的形态, 正常细胞内无明显的脂滴聚集现象, 因此经染色后呈较弱的绿色荧光(图B), 主要是细胞膜上脂类的染色; 图E为使用油酸诱导后细胞在显微镜明场下形态, 此时细胞内有很明显的脂滴聚集, 细胞内脂滴被BODIPY 493/503染成明亮的绿色荧光(图F)。图C、G为细胞核染色效果, 图D、H为脂滴和细胞核的叠加图。实际检测效果会因实验条件、检测仪器的不同而存在差异, 本图仅供参考。

- 对于96孔板中的样品，按照每孔使用100 μ l染色液计算，本试剂盒的小包装和中包装可以进行1000次和5000次检测；如果用于流式细胞仪检测，按照每个样品的检测体系体积为0.5ml时，本试剂盒的小包装和中包装可以进行200次和1000次检测；对于6孔板中的贴壁培养细胞样品，按照每孔使用1ml染色液计算，本试剂盒的小包装和中包装可以进行100次和500次检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C2053S-1	BODIPY 493/503 (1000X)	0.1ml
C2053S-2	Hoechst 33342 (1000X)	0.1ml
C2053S-3	Assay Buffer	100ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C2053M-1	BODIPY 493/503 (1000X)	0.5ml
C2053M-2	Hoechst 33342 (1000X)	0.5ml
C2053M-3	Assay Buffer	500ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20 $^{\circ}$ C避光保存，至少一年有效。BODIPY 493/503 (1000X)和Hoechst 33342 (1000X)须避光保存。

注意事项：

- 第一次使用时建议适当分装，避免反复冻融。
- BODIPY 493/503的工作浓度、细胞量、孵育温度和时间等可根据所使用的细胞进行适当摸索和优化，例如BODIPY 493/503的浓度可在0.2X-2X之间适当调整。
- BODIPY 493/503在激光照射下易发生淬灭，因此需要在保证荧光亮度的前提下尽可能降低染料使用浓度，降低荧光显微镜激发光强度，缩短拍照时间。
- 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。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 染色液的配制：

按照6孔板每孔1ml脂滴染色液的体系，参考下表配制适量的染色液，并充分混匀。

Reagent	1 Sample	10 Samples	100 Samples
BODIPY 493/503 (1000X)	1 μ l	10 μ l	100 μ l
Hoechst 33342 (1000X)	1 μ l	10 μ l	100 μ l
Assay Buffer	998 μ l	9.98ml	99.8ml
Staining Solution	1ml	10ml	100ml

注：配制好的Staining Solution必须一次使用完毕，不建议冻存或4 $^{\circ}$ C保存后继续使用。染色液中BODIPY 493/503的浓度可以根据染色效果在0.2X-2X之间适当调整。

2. 荧光显微镜检测：

a. 接种培养。将细胞接种于6孔板等多孔板、细胞培养皿或者细胞爬片上。如有必要，按实验设计对细胞进行一定处理。

b. 固定(选做)。

(a) 取出待检测的细胞，使用PBS洗涤两遍，吸除PBS。

(b) 加入4%多聚甲醛固定液(P0099)室温固定10-15分钟。

注1：BODIPY 493/503和Hoechst 33342都适用于活细胞染色，也适用于固定后细胞的染色[3]。

注2：由于醇类能够溶解脂质，因此请使用醛类固定液进行固定。

注3：如果需要免疫染色而进行细胞通透，须避免使用含Triton X-100或Tween-20等去垢剂的通透液，而使用不会溶解细胞膜的去垢剂如含Saponin (P0095)或Digitonin (ST1272)的通透液，但仍然可能会一定程度的影响脂滴的形态。

c. 染色。

(a) 取出待检测的细胞，PBS洗涤1-2遍。

(b) 吸除PBS，加入适当体积的Staining Solution，通常96孔板每孔加入100 μ l，24孔板每孔加入250 μ l，12孔板每孔加入 500 μ l，6孔板每孔加入1ml。室温下避光孵育10-20分钟。

(c) PBS洗涤两遍。

d. 检测。使用荧光显微镜观察时选择使用488nm左右激发，观察绿色荧光。

注：使用荧光显微镜拍照时，为了减少荧光淬灭，尽可能降低荧光显微镜的激发光强度，缩短拍照时间。

3. 流式细胞仪检测:

a. 细胞准备。

(a) 贴壁细胞胰酶消化后用培养液重悬,并用PBS洗涤一次;悬浮细胞250-1000×g室温离心5分钟,弃上清,用PBS 洗涤一次。每个样品推荐的细胞用量为10⁶个细胞。

(b) 400×g室温离心5分钟,弃上清。

b. 固定(选做)。

(a) 加入4%多聚甲醛固定液(P0099),轻轻吹打重悬为单细胞悬液,室温固定10-15分钟。

(b) 固定结束后,400×g室温离心5分钟,弃上清。

(c) 加入0.5ml PBS后缓慢用移液器吹打洗涤,然后400×g室温离心5分钟,弃上清。

注1: BODIPY 493/503和Hoechst 33342都适用于活细胞染色,也适用于固定后细胞的染色[3]。

注2: 由于醇类能够溶解脂质,因此请使用醛类固定液进行固定。

注3: 如果需要进行免疫染色而进行细胞通透,须避免使用含Triton X-100或Tween-20等去垢剂的通透液,而使用不会溶解细胞膜的去垢剂如含Saponin (P0095)或Digitonin (ST1272)的通透液,但仍然可能会一定程度的影响脂滴的形态。

c. 染色。

(a) 对于上一步骤的细胞沉淀,除背景对照管外,其余每管加入0.5ml Staining Solution,轻柔并充分重悬细胞,室温避光孵育10-15分钟。

(b) 400×g室温离心5分钟,弃上清。

(c) 每孔加入0.5ml PBS后缓慢用移液器吹打洗涤,然后400×g室温离心5分钟,弃上清。

(d) 每孔加入0.5ml PBS重悬细胞。

d. 检测。检测时参考其光谱特征选择合适的检测条件,例如Ex/Em=488/510nm。

注1: 使用仅含Assay Buffer并且未经染色的细胞样品用于流式细胞仪的阴性对照设置。

注2: 由于流式检测比较灵敏,使用的荧光探针浓度可能要比荧光显微镜检测时要低,此时可根据细胞类型和实际染色 情况对BODIPY 493/503的稀释倍数进行适当调整。

4. 荧光酶标仪检测:

a. 接种培养。将细胞接种于96孔板黑色多孔板中,如BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(FCP966),每孔的细胞数需要控制在100-10,000个,通常宜在2000-5000个范围内。按实验设计对细胞进行一定处理。

b. 固定(选做)。

(a) 取出待检测的细胞,使用PBS洗涤两遍,吸除PBS。

(b) 加入4%多聚甲醛固定液(P0099)室温固定10-15分钟。

注1: BODIPY 493/503和Hoechst 33342都适用于活细胞染色,也适用于固定后细胞的染色[3]。

注2: 由于醇类能够溶解脂质,因此请使用醛类固定液进行固定。

注3: 如果需要进行免疫染色而进行细胞通透,须避免使用含Triton X-100或Tween-20等去垢剂的通透液,而使用不会溶解细胞膜的去垢剂如含Saponin (P0095)或Digitonin (ST1272)的通透液,但仍然可能会一定程度的影响脂滴的形态。

c. 染色。

(a) 取出待检测的细胞,使用PBS洗涤1-2遍。

(b) 吸除PBS,加入适当体积的Staining Solution,通常96孔板每孔加入100μl。室温下避光孵育10-20分钟。

(c) PBS洗涤两遍。

d. 检测。参考其光谱特征,选取合适的波长进行读板,例如Ex/Em=488/510nm。具体根据酶标仪的特点选择,也不一定需要选用最大激发光/发射光波长来检测。

5. 阳性对照的诱导方法:油酸(ST2053)可以诱导培养细胞内脂滴生成,从而可以作为阳性对照。诱导培养细胞内形成脂滴的具体方法如下。

a. 37°C条件下加热油酸,使其完全成为液体。

b. 取48μl的油酸,加入到952μl的DMSO中,充分混匀,配制150mM的油酸贮存液。贮存液可以保存在4°C,使用时37°C条件下加热混匀后即可使用。

c. 细胞诱导前,配制含油酸的完全培养液。使用细胞的完全培养液按500:1稀释油酸贮存液,使油酸终浓度为300μM。

注:油酸具有一定的细胞毒性,因细胞而异,可以根据不同细胞状况调整油酸的使用终浓度。

d. 待检测的细胞加入含油酸的完全培养液,37°C培养过夜。一般情况下,次日可以观察到囊泡状的脂滴。

参考文献:

1. Olzmann JA, Carvalho P. Nat Rev Mol Cell Biol. 2019. 20(3):137-155.
2. Thiam AR, Farese RV Jr, Walther TC. Nat Rev Mol Cell Biol. 2013. 14(12):775-86.
3. Listenberger LL, Brown DA. Curr Protoc Cell Biol. 2007. Chapter 24:Unit 24.2.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0157S	油红O染色试剂盒	50-250次
C0157M	油红O染色试剂盒	200-1000次

C0158S	改良油红O染色试剂盒	50-250次
C0158M	改良油红O染色试剂盒	200-1000次
C2051S	脂滴红色荧光检测试剂盒(Nile Red)	100-1000次
C2051M	脂滴红色荧光检测试剂盒(Nile Red)	500-5000次
C2053S	脂滴绿色荧光检测试剂盒(BODIPY 493/503)	100-1000次
C2053M	脂滴绿色荧光检测试剂盒(BODIPY 493/503)	500-5000次
ST2053-50μl	油酸(≥99%, BioReagent)	50μl
ST2053-250μl	油酸(≥99%, BioReagent)	250μl
ST2053-1ml	油酸(≥99%, BioReagent)	1ml

Version 2022.02.20