

死细胞绿色荧光染色试剂盒(Nuclear Green)

产品编号	产品名称	包装
C1181S	死细胞绿色荧光染色试剂盒(Nuclear Green)	1000次

产品简介:

- 碧云天的死细胞绿色荧光染色试剂盒(Nuclear Green), 即Dead Cell Green Fluorescence Staining Kit with Nuclear Green 或Nuclear Green Dead Cell Staining Kit, 是一种快速、高效、便捷的基于绿色荧光探针Nuclear Green特异地对坏死细胞的细胞核进行染色的试剂盒。本试剂盒染色后可用于荧光显微镜或流式细胞仪等荧光检测。
- Nuclear Green, 也称SYTOX Green, 是一种非细胞膜渗透性的花菁荧光染料, 不能穿过具有生物活性的细胞质膜, 只能穿过死细胞膜的无序区域而到达细胞核, 并嵌入细胞的DNA双螺旋形成Nuclear Green-DNA复合物, 荧光强度增加500倍以上, 从而产生明亮的绿色荧光[1], 因此Nuclear Green仅能对死细胞染色, 从而被用来区分正常细胞与坏死细胞。Nuclear Green形成DNA复合物的最大激发光波长为504nm, 最大发射光波长为528nm。Nuclear Green和DNA复合物的激发光与发射光谱参考图1。

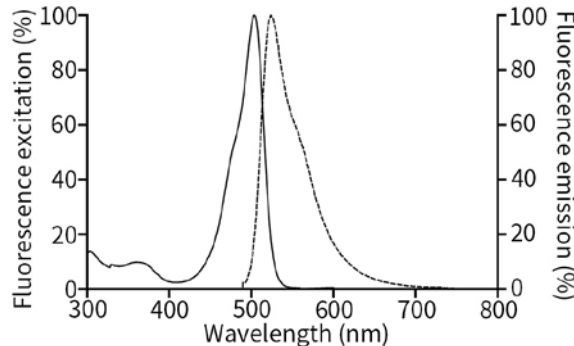


图1. Nuclear Green和DNA复合物的激发光谱与发射光谱。

- 使用本试剂盒检测坏死细胞的效果参考图2和图3。

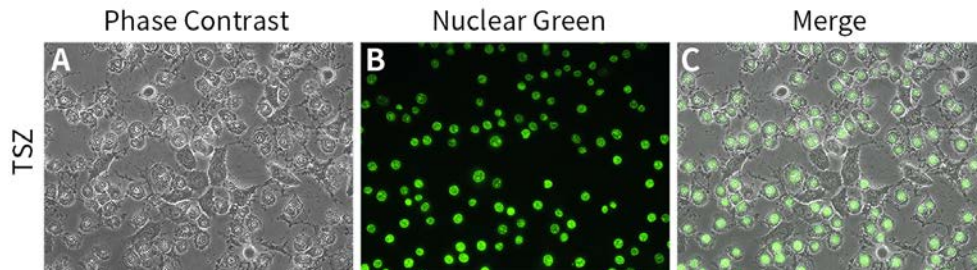


图2. 碧云天死细胞绿色荧光染色试剂盒(Nuclear Green) (C1181)检测坏死细胞的荧光染色效果。图A为L-929细胞在明场下的形态图; 图B的绿色荧光为Nuclear Green染色的坏死细胞的细胞核。L-929细胞经TSZ处理4小时即可发生明显的坏死。TSZ是由TNF α 、SM-164、Z-VAD-FMK组成的细胞程序性坏死诱导试剂盒(C1058)。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

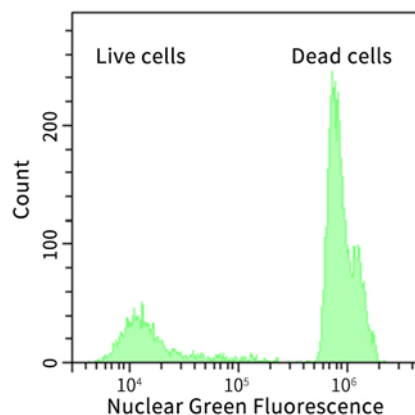


图3. 碧云天死细胞绿色荧光染色试剂盒(Nuclear Green) (C1181)检测坏死细胞的流式细胞仪检测效果。L-929细胞经TSZ处理4小时即可发生明显的坏死, 使用本试剂盒进行荧光染色后经流式细胞仪检测可以明显区分死细胞和活细胞。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- Nuclear Green是一种高亲和力的核酸染料, 因其信号明亮, 性能优越, 不仅适合于哺乳动物的细胞活性检测, 也非常适合于革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的活性检测。
- 本试剂盒内提供的Nuclear Green (1000X)为储存液, 推荐Nuclear Green的使用浓度为1X, 孵育时间为10-30分钟。为了达到良好的染色效果, 建议根据自身实验条件和细胞或组织摸索Nuclear Green的使用浓度与染色时间。
- 以96孔板为例, 本试剂盒小包装的Nuclear Green可以进行1000次染色。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C1181S-1	Nuclear Green (1000X)	0.1ml
C1181S-2	Assay Buffer	100ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 至少一年有效。Nuclear Green (1000X)须避光保存。

注意事项:

- Nuclear Green (1000X)为荧光染料, 收到时可以根据需要适当进行分装, 避免反复冻融, 操作时请注意避光。
- 如需使用HBSS, 推荐选购Hanks' Balanced Salt Solution (C0218)。
- 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. Nuclear Green染色工作液的配制。

6孔板每孔所需Nuclear Green染色工作液的量为1ml, 其它培养器皿的Nuclear Green染色工作液的用量以此类推; 对于细胞悬液每50-100万细胞需0.5ml Nuclear Green染色工作液。取适量Nuclear Green (1000X), 按照每1 μ l Nuclear Green (1000X)加入1ml Assay Buffer的比例稀释Nuclear Green, 混匀后即为Nuclear Green染色工作液。

注1: 配制Nuclear Green染色工作液时注意避光, 且须现配现用, 稀释后不能长期保存。

注2: Nuclear Green染色工作液中Nuclear Green的最终浓度需根据不同细胞系和实验体系通过预实验进行优化。

注3: 本试剂盒中提供的Assay Buffer可在一段时间内维持细胞的正常状态, 并给细胞提供一定的营养。

注4: 如果用于坏死细胞的细胞核染色, 可直接使用Nuclear Green染色工作液进行染色; 如果用于非坏死细胞的细胞核染色, 则需要固定、通透并使用RNase A (ST576-ST579)处理后再进行染色, 推荐直接使用细胞核绿色荧光染色液(Nuclear Green) (C1186)。

2. 对于悬浮细胞。

- 细胞按照实验设计进行一定处理后, 酌情取约10-100万细胞600 \times g室温离心5分钟, 弃上清, 加入适当体积的Nuclear Green染色工作液重悬细胞, 使细胞密度为100万-1000万/ml。
- 细胞培养箱中37°C孵育15-30分钟, 不同的细胞最佳孵育时间不同。以20分钟作为初始孵育时间, 根据作用细胞对孵育时间进行适当优化以得到最佳的效果。
- 37°C孵育结束后, 600 \times g 4°C离心3-4分钟, 沉淀细胞。弃上清, 注意尽量不要吸除细胞。
- 用无血清培养液或HBSS洗涤2次: 加入1ml无血清培养液重悬细胞, 600 \times g 4°C离心3-4分钟, 弃上清。再加入1ml无血清培养液或HBSS重悬细胞, 600 \times g 4°C离心3-4分钟, 弃上清。
- 再用适量无血清培养液或HBSS重悬细胞后, 用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察, 也可以用荧光分光光度计检测或流式细胞仪分析。

3. 对于贴壁细胞。

注: 对于贴壁细胞, 如果希望采用流式细胞仪检测, 可以先消化并收集细胞, 重悬后参考悬浮细胞的检测方法。

- 对于6孔板的一个孔, 吸除培养液, 根据具体实验如有必要可以用PBS或其它适当溶液洗涤细胞一次。如果使用其它的多孔板, 各种试剂的用量需要相应按比例调整。
- 加入1ml Nuclear Green染色工作液。细胞培养箱中37°C孵育15-30分钟, 不同的细胞最佳孵育时间不同。以20分钟作为初始孵育时间, 根据作用细胞对孵育时间进行适当优化以得到最佳的效果。
- 37°C孵育结束后, 吸除上清, 用无血清培养液或HBSS洗涤2次。
- 加入2ml无血清培养液或HBSS, 荧光显微镜或激光共聚焦显微镜下观察。如果考虑使用荧光酶标仪检测, 优先推荐使用碧云天的BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装) (FCP966)或BeyoGold™黑色透明底96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装) (FCP965), 分别进行顶读或底读模式进行荧光检测。

参考文献:

1. Jones LJ, Singer VL. Anal Biochem. 2001. 293(1):8-15.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0011	台盼蓝染色细胞存活率检测试剂盒	100次
C0013	中性红细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒	500次
C0016/C0017	乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒	100次/500次
C0018	乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
C0035/C0036	WST-1细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒	100次/500次/2500次
C1053	7-AAD细胞活力检测试剂盒	200次/1000次
C1056	细胞凋亡与坏死检测试剂盒	100次
C1070	Annexin V-mCherry/SYTOX Green细胞凋亡检测试剂盒	20次/50次
C1075	YO-PRO-1/PI细胞凋亡与坏死检测试剂盒	100次/500次
C1181S	死细胞绿色荧光染色试剂盒(Nuclear Green)	1000次
C1186-100ml	细胞核绿色荧光染色液(Nuclear Green)	100ml
C2015	Calcein/PI细胞活性与细胞毒性检测试剂盒	100次/500次/2500次
C2022	YO-PRO-1 (凋亡与坏死细胞绿色荧光探针)	1mM×0.2ml/1mM ×1ml
C2025	YO-PRO-1/RNase细胞核染色液	10ml/50ml
C2030	细菌死活染色试剂盒(DMAO/PI)	200次/1000次

Version 2024.11.21