

Beyo3D™ ER-Tracker Green染色试剂盒

产品编号	产品名称	包装
C1455S	Beyo3D™ ER-Tracker Green染色试剂盒	50次

产品简介:

- 碧云天生产的Beyo3D™ ER-Tracker Green染色试剂盒(Beyo3D™ ER-Tracker Green Assay Kit), 是一种快速、便捷的用于3D培养的细胞球或类器官等的活细胞内质网染色的试剂盒。仅需染色20分钟就可在荧光显微镜下观察到非常明亮的活细胞内质网绿色荧光染色。
- ER-Tracker Green为采用Molecular Probes公司的BODIPY® FL进行了荧光标记的glibenclamide。Glibenclamide即glyburide, 中文名称为格列本脲, 是一种常用2型糖尿病的治疗药物, 可以高度结合主要定位在内质网上的包含ATP敏感的钾离子通道(K_{ATP} channel)的磺脲类(Sulphonylurea)受体。因此荧光标记的glibenclamide就可以用作内质网特异性的荧光探针。ER-Tracker Green适用于活细胞内质网的荧光染色, 但不适用于固定细胞内质网的荧光染色。
- ER-Tracker Green呈绿色荧光, 检测时最大激发光波长为504nm, 最大发射光波长为511nm。
- **本产品适用范围广。**本产品可用于各种方法培养出的3D细胞球或类器官, 包括超低吸附细胞培养板、Matrix-Gel™ 基质胶或Matrigel包被的平板、琼脂糖包被的平板、细胞悬滴培养板等。
- **本产品使用便捷, 整个检测过程仅需约30分钟即可完成。**对于常规的3D细胞活细胞染色, 仅需将本试剂盒中的Beyo3D™ ER-Tracker Green染色液(250X)按照相应比例用Beyo3D™ ER-Tracker Green Assay Buffer配制成为Beyo3D™ ER-Tracker Green检测工作液, 避光孵育20分钟即可进行荧光检测。本产品对3D培养的HCT-116细胞的染色效果参考图1。

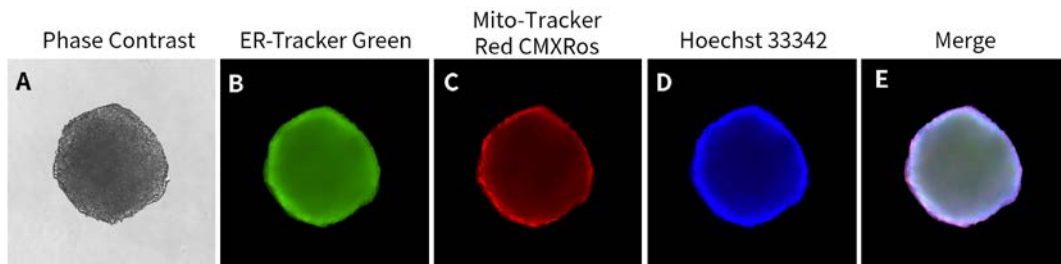


图1. 碧云天Beyo3D™ ER-Tracker Green染色试剂盒(C1455)对于3D培养的HCT-116细胞的染色效果图。5000个HCT-116细胞在使用碧云天3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板中培养72小时, 然后吸除培养液后直接加入Beyo3D™ ER-Tracker Green染色液(1X)染色20分钟(图中各染料可混合配制后使用)。结果显示, Beyo3D™ ER-Tracker Green染色试剂盒对于3D细胞染色效果清晰、明亮, Beyo3D™ ER-Tracker Green染色的内质网呈现绿色荧光(图B), Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1000X) (C1439)染色的线粒体呈现红色荧光(图C), Beyo3D™ Hoechst 33342染色液(C1345)染色的细胞核呈现蓝色荧光(图D), 绿色荧光、红色荧光及细胞核蓝色荧光的叠加(Merge)效果见图E。实际检测效果会因细胞株、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。

- 传统的细胞培养大多以二维(Two-dimensional, 2D)的形式展开, 但2D培养的细胞在生长方式、生长形态、分化和功能等方面都与体内生理条件下细胞的真实形态和结构存在明显差异, 可能会因为细胞结构和组织形态的缺失, 使实验结果的可信度降低[1-3]。三维(Three-dimensional, 3D)细胞培养能够更好地模拟体内细胞生存的微环境, 更能代表体内组织, 也能更真实的反映细胞与细胞间、细胞与基质间的相互作用, 细胞对外源性和内源性刺激的应答也更接近于它们在体内的反应, 3D细胞培养从而成为更有价值并更为可信的体外实验模型, 能够获得与体内实验更加一致的实验结果[4-5]。
- 3D肿瘤细胞模型越来越多地被用于了解疾病机制和药物研发。2D培养的肿瘤细胞, 其单侧细胞膜可以均匀地获得营养和氧气, 而3D培养的肿瘤细胞团的内部细胞获得营养和氧气的机会更少, 形成自然的营养和氧气梯度, 能更好地模拟体内微环境条件, 因此3D培养的肿瘤球状体(Spheroid)或肿瘤类器官(Organoid)等能更好地模拟体内肿瘤, 更利于小分子药物筛选或者肿瘤相关分子机制的研究, 也更能准确地预测药物治疗的体内反应、疗效或毒性。同时, 2D肿瘤细胞模型体外扩增有一定局限性, 在传代后容易丧失原肿瘤的遗传异质性, 出现优势克隆选择性, 从而降低临床相关性。相比于2D细胞模型, 3D细胞球或者类器官很多情况下能提供更可信的研究结果, 简化并加速药物评价流程。自2009年小肠类器官首次建立至今, 3D细胞和类器官研究已经扩展到很多组织系统, 并成为生命科学最热门的领域之一。
- 按照96孔板每孔需要0.4μl Beyo3D™ ER-Tracker Green染色液(250X), 本试剂盒小包装可以进行50个样品的检测。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C1455S-1	Beyo3D™ ER-Tracker Green染色液(250X)	20μl
C1455S-2	Beyo3D™ ER-Tracker Green Assay Buffer	5ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，半年有效。Beyo3D™ ER-Tracker Green染色液(250X)须避光保存。

注意事项：

- ER-Tracker Green在4°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，可以20-25°C水浴温育片刻至全部融解后使用。对于微量的液体，每次使用前先离心数秒钟，使液体充分沉降到管底。
- 细胞球在外力的作用下容易变形或分散，PBS洗涤及换液等过程须轻柔，避免破坏或吹散3D细胞球。
- 格列本脲的药理学活性可能会影响内质网的一些功能；某些特殊细胞中磺脲类受体的可变表达可能会导致非内质网特异性染色。
- ER-Tracker Green适用于活细胞内质网的荧光染色，但不适用于固定细胞内质网的荧光染色。如果经ER-Tracker Green染色后的细胞需要进行固定操作，使用4%多聚甲醛在37°C固定2分钟。
- ER-Tracker Green染色后的细胞不能用Triton X-100通透，Triton X-100通透处理会导致ER-Tracker Green的荧光染色消失。
- 本产品浓度经过碧云天的优化，确保可以满足活细胞染色及各种常规染色的需要。如需使用特定浓度的ER-Tracker Green，请选购碧云天的ER-Tracker Green (内质网绿色荧光探针) (C1042)。
- 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：

本步骤以96孔板，每孔接种100μl细胞为例，如使用其它类型的多孔板，各试剂用量请按照相应比例进行换算。

1. 3D细胞的准备。

在96孔3D培养板中每孔接种100μl细胞，细胞的接种量根据具体的实验方案，例如培养天数、需要的3D细胞球状体的大小等确定，按照3D细胞培养方案培养细胞，并按照实验设计进行一定的处理。96孔3D培养板推荐使用碧云天的3D细胞培养板包被液(C0365)、3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板，或直接使用BeyoGold™超低吸附96孔板(FULA962/FULA961)、BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖，独立包装) (FULA965)等。

注：为达到最佳的使用效果，具体细胞球培养时间、药物等干预时间可以根据细胞种类、具体的实验需求等进行调整。例如，对于HCT-116细胞，通常接种培养48小时形成较为紧实的细胞球后进行干预染色效果较好。

2. 3D细胞ER-Tracker Green染色。

a. Beyo3D™ ER-Tracker Green染色液(1X)的配制：如下表所示，按照96孔板每孔需要100μl Beyo3D™ ER-Tracker Green染色液(1X)的量，用Beyo3D™ ER-Tracker Green Assay Buffer稀释配制适量的Beyo3D™ ER-Tracker Green染色液(1X)。

Sample number	10 samples	50 samples	100 samples
Beyo3D™ ER-Tracker Green Assay Buffer	1ml	5ml	10ml
Beyo3D™ ER-Tracker Green Staining Solution (250X)	4μl	20μl	40μl
Total volume	~1ml	~5ml	~10ml

注1：配制好的Beyo3D™ ER-Tracker Green染色液(1X)必须一次使用完毕，不能冻存。

注2：Beyo3D™ ER-Tracker Green染色工作液中的ER-Tracker Green的最终浓度可以根据不同细胞系和实验体系通过预实验进行优化。ER-Tracker Green的工作浓度通常为0.5-2X，推荐使用浓度为1X。

b. 小心去除原有细胞培养液。每孔加入100μl Beyo3D™ ER-Tracker Green染色液(1X)，在适宜于细胞培养的温度避光孵育20分钟。

注1：为达到最佳的染色效果，具体染色时间可以根据细胞种类、培养天数、细胞球状大小等进行调整。

注2：任何液体吸除或加入的过程须轻柔，避免破坏或吹散3D细胞球。3D细胞球通常沉浮在培养板或培养皿等培养器的底部，培养板在对着光线时能看到孔内针尖大小的乳白色细胞球，吸除孔内液体时须尽量避开细胞球以免将细胞球吸走。可以根据孔内液体的体积将移液器调至合适的量程，例如需要吸除的液体体积为100μl，将200微升移液器的量程调整到50-70微升，避开细胞球从液体边缘缓慢、分次吸除。孔内加入液体时，沿着孔壁小心、缓慢加入，避免破坏或吹散3D细胞球。

3. 荧光拍摄。

染色结束后，小心去除孔内染色液，沿着孔壁缓慢加入适量的PBS洗涤细胞球1次并用完全培养基换液以终止染色，即可在荧光显微镜下观察。ER-Tracker Green为绿色荧光探针，检测时最大激发光波长为504nm，最大发射光波长为511nm。

注：任何液体吸除或加入的过程须轻柔，避免破坏或吹散3D细胞球。

参考文献：

1. Kapa

Michalska M, Kolanek A, Topolczyński P, Był a W, Zajac

- Riedl A, Schleder M, Pudenko K, Stadler M, Walter S, et al. J Cell Sci. 2017. 130(1):203-218.
- Hoarau-Véchet J, Rafii A, Touboul C, Pasquier J. Int J Mol Sci. 2018. 19(1):181.
- Ravi M, Paramesh V, Kaviya SR, Anuradha E, Solomon FD. J Cell Physiol. 2015. 230(1):16-26.
- Antoni D, Burckel H, Josset E, Noel G. Int J Mol Sci. 2015. 16(3):5517-27.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0365	3D细胞培养板包被液	20/100ml
C0366S	3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板)	5plts
C0049	Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	100/500/2500次
C0061	CellTiter-Lumi™发光法3D细胞活力检测试剂盒	100/500/2500次
C0371	Matrix-Gel™基质胶(标准型, 含酚红)	1/5/10/50ml
C0372	Matrix-Gel™基质胶(标准型, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0376	Matrix-Gel™基质胶(低生长因子, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0383	Matrix-Gel™基质胶(高浓度, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0387	Matrix-Gel™基质胶(高浓度低生长因子, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0392	Matrix-Gel™基质胶(干细胞用, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0396	Matrix-Gel™基质胶(类器官用, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C1341	Beyo3D™ DAPI染色液	10/50/200ml
C1345	Beyo3D™ Hoechst 33342染色液	10/50/200ml
C1352	Beyo3D™ PI染色液	10/50/200ml
C1356	Beyo3D™ YO-PRO-1染色液	10/50/200ml
C1363	Beyo3D™ YO-PRO-1/PI细胞凋亡与坏死检测试剂盒	100/500次
C1367	Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	0.1/0.5/2ml
C1371	Beyo3D™ Calcein/PI细胞活性与细胞毒性检测试剂盒	100/500次
C1375	Beyo3D™ Calcein/PI/Hoechst细胞活力检测试剂盒	100/500次
C1379	Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测试剂盒	100/500次
C1383	Beyo3D™ Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒	20/50/100次
C1387	Beyo3D™ Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒	20/50/100次
C1391	Beyo3D™ Annexin V-EGFP细胞凋亡检测试剂盒	20/50次
C1395	Beyo3D™ Annexin V- mCherry细胞凋亡检测试剂盒	20/50/100次
C1399	Beyo3D™ Annexin V-mCherry/SYTOX Green细胞凋亡检测试剂盒	20/50次
C1403	Beyo3D™活细胞Caspase-3活性与线粒体膜电位检测试剂盒	20/50次
C1407	Beyo3D™ Caspase-3活性与Annexin V细胞凋亡检测试剂盒	20/50次
C1411	Beyo3D™线粒体膜电位与细胞凋亡检测试剂盒	20/50次
C1415	Beyo3D™细胞膜红色荧光染色试剂盒(DiI)	100/500次
C1419	Beyo3D™细胞膜绿色荧光染色试剂盒(DiO)	100/500次
C1423	Beyo3D™细胞膜远红荧光染色试剂盒(DiD)	100/500次
C1427S	Beyo3D™ Mito-Tracker Deep Red FM染色液(1000X)	20µl
C1431	Beyo3D™ Mito-Tracker Deep Red 633染色液(1000X)	50/250µl
C1435	Beyo3D™ Mito-Tracker Green染色液(1000X)	50/250µl
C1439	Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1000X)	50/250µl
C1443	Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1000X)	50/250µl
C1447	Beyo3D™ Lyso-Tracker Green染色液(1000X)	50/250µl
C1451S	Beyo3D™ ER-Tracker Red染色试剂盒	50次
C1455S	Beyo3D™ ER-Tracker Green染色试剂盒	50次
P0121	BeyoCUBIC™ 3D细胞透明化试剂盒	5/25ml
FULA061	BeyoGold™超低吸附6孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA122	BeyoGold™超低吸附12孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA243	BeyoGold™超低吸附24孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个

FULA485	BeyoGold™超低吸附48孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA961	BeyoGold™超低吸附96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA962	BeyoGold™超低吸附96孔板(圆底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA965	BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA981	BeyoGold™超低吸附384孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA985	BeyoGold™超低吸附黑色透明底384孔板 (平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA035-10pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋
FULA035-40pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA060-10pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋
FULA060-40pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA100-10pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋
FULA100-40pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱

Version 2025.03.25