

脂滴蓝色荧光检测试剂盒(LipID-Blue)

产品编号	产品名称	包装
C2052S	脂滴蓝色荧光检测试剂盒(LipID-Blue)	100-1000次
C2052M	脂滴蓝色荧光检测试剂盒(LipID-Blue)	500-5000次

产品简介:

- 碧云天的脂滴蓝色荧光检测试剂盒(LipID-Blue), 英文名为Lipid Droplet Blue Fluorescence Assay Kit with LipiD-Blue, 也称LipID-Blue Staining Kit或Blue Neutral Lipid Stain, 是一种基于新型荧光探针LipID-Blue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)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]。
- 本试剂盒所使用的荧光探针为LipID-Blue, 也称Lipi-Blue, 是一种亲脂性染料, 适用于脂滴的标记和成像。LipID-Blue具有良好的光稳定性和适宜的荧光光谱, 可与多种常用荧光染料(如GFP和AF555等)兼容, 支持多色成像的需求。此外, LipiD-Blue同时适用于固定的细胞和活细胞, 并具有较低背景。
- LipiD-Blue在细胞中最大激发光波长约为385nm, 最大发射光波长约为423nm。LipID-Blue在NRK-52E细胞中的激发光和发射光谱参考图1。

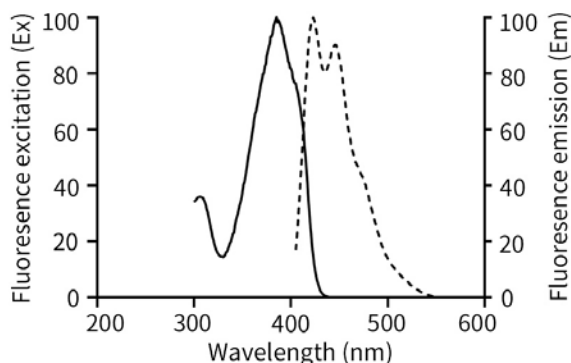


图1. LipiD-Blue在NRK-52E细胞中的激发光和发射光谱。

- 本试剂盒提供的LipID-Blue为1000X溶液, 该溶液经过优化, 对大多数细胞都适用, 但为了得到满意的结果, 对于不同类型的细胞请自行进行一定摸索, LipID-Blue的终浓度通常为0.5X-5X, 最优先的推荐终浓度为1X。本试剂盒提供了绿色细胞核染料Nuclear Green LCS, 可染色活细胞或固定后的细胞, 方便观察所有的细胞核, Nuclear Green LCS的最大激发波长约510nm, 最大发射波长约为535nm。
- LipiD-Blue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, 便发出明亮的蓝色荧光。使用本试剂盒检测细胞内脂滴的效果请参考图2。

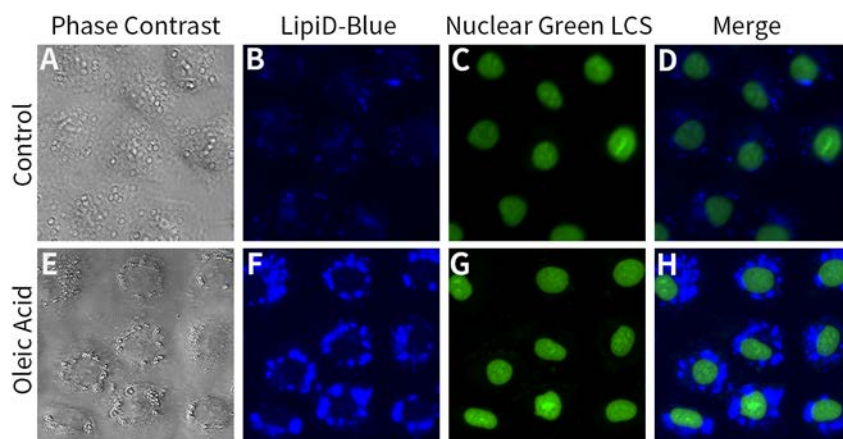


图2. 碧云天脂滴蓝色荧光检测试剂盒(LipID-Blue) (C2052)检测NRK-52E细胞内脂滴的效果图。图A为正常NRK-52E细胞在显微镜明场下的形态, 正常细胞内无明显的脂滴聚集现象, 因此经LipID-Blue (图B)染色后呈较弱的荧光, 主要为散在的微小脂滴染色; 图E为使用400μM油酸(Oleic acid) (ST2053)诱导24小时后细胞在显微镜明场下形态, 此时细胞内有很明显的脂滴聚集, 脂滴经过LipID-Blue染色后, 呈现非常明亮的蓝色荧光(图F)。图C和图G呈现了细胞核Nuclear Green LCS的染色效果, 图D、H为LipID-Blue和Nuclear Green LCS荧光染色的叠加图。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。

➤ 本试剂盒染色细胞后用于流式检测的效果请参考图3。

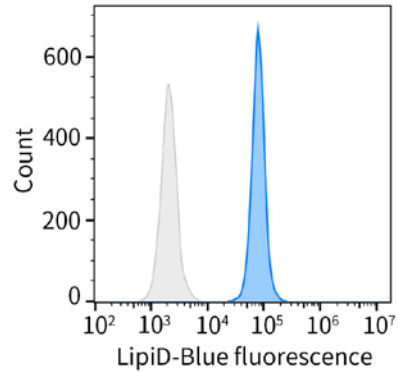


图3. 碧云天脂滴蓝色荧光检测试剂盒(LipID-Blue) (C2052)用于流式细胞仪检测的效果图。HeLa细胞经400μM油酸诱导24小时后, 使用本试剂盒中的LipID-Blue进行染色并进行流式检测。灰色峰为LipID-Blue弱染色的HeLa细胞(同样经400μM油酸诱导24小时但未诱导形成明显脂滴的细胞), 蓝色峰为LipID-Blue强染色的HeLa细胞(同样经400μM油酸诱导24小时但诱导形成明显脂滴的细胞)。实际检测效果会因实验条件、检测仪器的不同而存在差异, 本图仅供参考。

➤ 对于96孔板中的样品, 按照每孔使用100μl染色液计算, 本试剂盒小包装和中包装分别可以进行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, 本试剂盒小包装和中包装分别可以进行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, 本试剂盒小包装和中包装分别可以进行100次和500次检测。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C2052S-1	LipID-Blue (1000X)	0.1ml
C2052S-2	Nuclear Green LCS (1000X)	0.1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C2052M-1	LipID-Blue (1000X)	0.5ml
C2052M-2	Nuclear Green LCS (1000X)	0.5ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20℃保存, 至少一年有效。LipID-Blue (1000X)和Nuclear Green LCS (1000X)须避光保存。

注意事项:

- 第一次使用时LipID-Blue (1000X)和Nuclear Green LCS (1000X)建议适当分装, 避免反复冻融。
- LipID-Blue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LipID-Blue的浓度对于细胞染色可在0.5X-5X之间适当调整, 对于流式细胞仪检测可在0.1X-1X之间适当调整。
- LipID-Blue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
LipID-Blue (1000X)	1μl	10μl	100μl
Nuclear Green LCS (1000X)	1μl	10μl	100μl

Assay Buffer	998μl	9.98ml	99.8ml
Staining Solution	1ml	10ml	100ml

注1：配制好的Staining Solution必须一次使用完毕，不建议冻存或4℃保存后继续使用。

注2：对于活细胞染色，建议使用含血清的培养液作为Assay Buffer；对于固定细胞染色，可使用PBS (C0221A)作为Assay Buffer。Assay Buffer可能会对染色结果有一定影响，可根据具体实验情况进行一定的摸索或优化。染色液中LipID-Blue的浓度对于细胞染色可在0.5X-5X之间适当调整，对于流式细胞仪检测可在0.1X-1X之间适当调整。

注3：Nuclear Green LCS染色为可选。

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：LipID-Blue和Nuclear Green LCS都适用于活细胞染色，也适用于固定后细胞的染色。

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，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，24孔板每孔加入250μl，12孔板每孔加入500μl，6孔板每孔加入1ml。37℃下避光孵育30分钟。

(c) PBS洗涤两遍。

d. 检测。LipID-Blue为蓝色荧光，最大激发光波长约为385nm，最大发射光波长约为423nm。Nuclear Green LCS为绿色荧光，最大激发波长约510nm，最大发射波长约为535nm。

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：LipID-Blue和Nuclear Green LCS都适用于活细胞染色，也适用于固定后细胞的染色。

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，或BeyoFC™流式检测细胞通透与洗涤液(Saponin) (C1717)，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，37℃避光孵育30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LipID-Blue光谱特征选择合适的检测条件，例如Ex/Em=385/423nm。Nuclear Green LCS的Ex/Em=510/535nm。

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LipID-Blue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(平底带盖，独立包装) (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。

注：细胞数目可根据荧光强度进行调整。细胞也可接种于其他细胞培养板中，经胰酶消化后收集，用于后续实验。

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：LipID-Blue和Nuclear Green LCS都适用于活细胞染色，也适用于固定后细胞的染色。

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，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。37°C下避光孵育30分钟。
 - (c) PBS洗涤两遍。
- d. 检测。参考LipID-Blue光谱特征，选取合适的波长进行读板，例如Ex/Em=385/423nm。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。Nuclear Green LCS的Ex/Em=510/535nm。
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63μl的油酸，加入到937μl的DMSO中，充分混匀，配制成200mM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400μM。
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.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0157	油红O染色试剂盒	50-250次/200-1000次
C0158	改良油红O染色试剂盒	50-250次/200-1000次
C2050	脂滴红色荧光检测试剂盒(LD540)	100-1000次/500-5000次
C2051	脂滴红色荧光检测试剂盒(Nile Red)	100-1000次/500-5000次
C2052	脂滴蓝色荧光检测试剂盒(LipID-Blue)	100-1000次/500-5000次
C2053	脂滴绿色荧光检测试剂盒(BODIPY 493/503)	100-1000次/500-5000次
C2054	脂滴绿色荧光检测试剂盒(LipID-Green)	100-1000次/500-5000次
C2055	BODIPY 500/510 C1, C12 (脂肪酸绿色荧光探针)	1mg/5mg/25mg
S0576	脂肪酸摄取荧光检测试剂盒(绿色荧光标记月桂酸)	100-1000次/500-5000次
ST2053	油酸(≥99%, Cell Culture Grade)	100μl/500μl/2ml