



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

BeyoAIE™细胞膜红色荧光染色试剂盒

产品编号	产品名称	包装
C2101S	BeyoAIE™细胞膜红色荧光染色试剂盒	100次
C2101M	BeyoAIE™细胞膜红色荧光染色试剂盒	500次

产品简介:

- 碧云天的BeyoAIE™细胞膜红色荧光染色试剂盒, 即BeyoAIE™ Cell Plasma Membrane Red Fluorescence Staining Kit, 是一种以BeyoAIE™ Membrane Red Probe为荧光探针, 并提供了染色增强剂、能快速灵敏地对细胞膜进行红色荧光染色和标记的试剂盒。本试剂盒可使用含有相关检测通道的荧光显微镜、激光共聚焦显微镜、流式细胞仪等荧光检测系统进行检测。
- 聚集诱导发光(Aggregation-induced emission, AIE)是由中国科学院院士唐本忠教授于2001年提出的原创性新科学概念。具有AIE效应的材料, 在分散态下发光微弱甚至不发光, 聚集后发光显著增强, 呈现出颠覆传统认知的光物理现象。目前AIE已成为生物学、医学、化学、材料等领域的研究热点, 多次入选全球热点前沿研究领域[1-3]。
- AIE系列荧光探针有如下特点。**1. 聚集诱导发光。**AIE荧光探针在溶液及细胞环境中能保持微弱的荧光信号, 而进入细胞并与目标结构结合聚集后, 其荧光信号会大幅度增强, 因此在成像过程中可以忽略溶液及细胞中未与特定结构结合的荧光分子, 从而在染色后通常可以直接进行成像, 无需多次洗涤, 可以显著简化成像流程。**2. 较大的斯托克斯(Stokes)位移。**AIE荧光探针在荧光成像中能够极大程度地避免信号串扰和自淬灭现象, 显著提高荧光成像清晰度, 从而进一步提升成像精确度。**3. 极佳的光学稳定性。**AIE荧光探针能在长时间的细胞成像过程中维持稳定的荧光信号输出, 特别适用于长期追踪、多次扫描的荧光成像实验。**4. 抗淬灭能力强。**与传统荧光探针相比, AIE荧光探针能有效规避浓度过高导致的荧光淬灭问题, 在高浓度应用场景更有竞争力[4-6]。
- BeyoAIE™ Membrane Red Probe, 是一种新型的细胞膜荧光探针, 分子式为 $C_{34}H_{27}F_6N_2PS_2$, 分子量约为670, 呈现红色荧光。本探针是一种基于聚集诱导发光荧光材料的三苯氨基衍生物, 具有典型的聚集诱导发光效应特性, 只需要简单与细胞孵育, 即可标记细胞膜。
- BeyoAIE™ Membrane Red Probe在进入细胞膜之前荧光信号非常弱, 在与细胞膜结合前后由于聚集状态的变化其荧光强度会产生极为明显的变化。BeyoAIE™ Membrane Red Probe被激发后可以发出橙红色的荧光, 与细胞膜脂质结合后的激发光谱和发射光谱参考图1。其中, 最大激发波长为493nm, 最大发射波长为610nm。

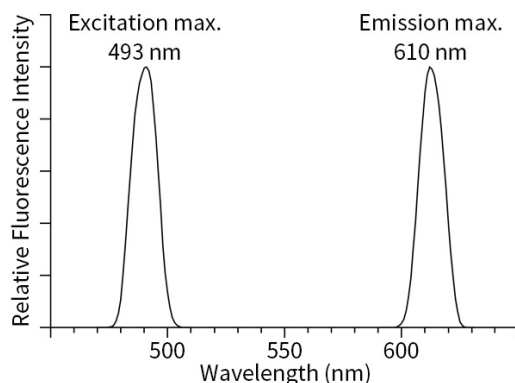


图1. BeyoAIE™ Membrane Red Probe和细胞膜脂质结合后的激发光谱和发射光谱。

- 本试剂盒提供的Assay Buffer可在一段时间内维持细胞的正常状态, 并提供适当营养, 效果比PBS或HBSS更好。也可以使用Assay Buffer外的其它合适的溶液配制, 如无血清培养液、HBSS (C0218)或PBS (C0221A)等稀释BeyoAIE™ Membrane Red Probe。
- 本试剂盒提供了Staining Enhancer, 使细胞膜染色更加快速, 荧光染色更加明亮, 染色背景更低。
- 本试剂盒可以直接染色活的细胞或组织的细胞膜, 染色时间通常为5-20分钟。对于固定的细胞或组织, 通常宜使用配制在PBS中的4%多聚甲醛固定液(P0099)进行固定, 使用其它固定液可能会导致荧光背景较高。本试剂盒对L929细胞的染色效果请参考图2。

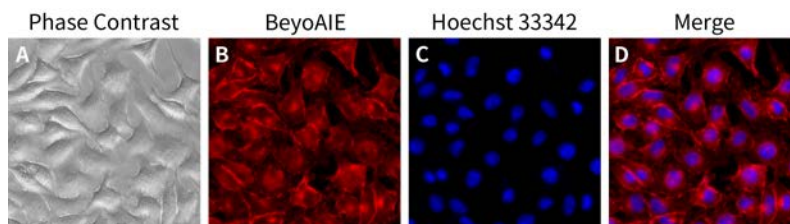


图2. 碧云天BeyoAIE™细胞膜红色荧光染色试剂盒(C2101)对L929细胞的荧光染色效果图。BeyoAIE™ Membrane Red Probe

染色时间为10分钟,然后再进行Hoechst 33342染色。BeyoAIE™ Membrane Red Probe染色呈现非常明亮的红色荧光, Hoechst 33342染色呈现蓝色荧光。本试剂盒不提供Hoechst 33342, 如有需要, 可自行选购Hoechst 33342染色液相关产品(C1022/C1025-C1029)等。实际的染色效果会因为实验条件、检测仪器的不同而存在差异, 本图仅供参考。

➤ 96孔板每孔检测体系的总体积为100μl时, 或每个流式细胞检测的细胞数为100万时, 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
C2101S-1	BeyoAIE™ Membrane Red Probe (1000X)	10μl
C2101S-2	Staining Enhancer (400X)	25μl
C2101S-3	Assay Buffer	10ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C2101M-1	BeyoAIE™ Membrane Red Probe (1000X)	50μl
C2101M-2	Staining Enhancer (400X)	125μl
C2101M-3	Assay Buffer	50ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20℃保存, 一年有效。BeyoAIE™ Membrane Red Probe (1000X)须避光保存。Staining Enhancer (400X)和Assay Buffer也可4℃保存, 至少1个月有效。

注意事项:

- 与传统染料不同, AIE染料 ‘‘斯托克斯’’ 位移较大, 可能不适配部分常规荧光显微镜的成像通道, 通常建议使用共聚焦显微镜或流式细胞仪进行检测。
- 由于组织样品的特殊性, 其固定、通透及探针浓度等条件需要进行一定的优化。
- 荧光酶标仪检测时须使用适合荧光检测的黑板或白板, 推荐使用碧云天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)。
- Assay Buffer经过滤除菌处理, 在使用时须注意避免微生物污染, 否则很可能严重影响染色效果。如果Assay Buffer发生浑浊等明显的微生物污染, 就不能继续使用。
- 本试剂盒可以对贴壁细胞进行标记, 但使用单细胞悬浮液可以获得更均匀的染色。可以将贴壁细胞先消化并收集细胞, 重悬后分散制备成单细胞悬液, 可获得更佳的染色效果。
- 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。
- 如果染色时间过长或染色后细胞继续培养, 探针也可能进入细胞内而染色其它细胞器的膜。
- 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. BeyoAIE Staining Solution的配制。

- a. BeyoAIE Staining Solution的用量。对于6、12、24、96孔板, 每孔的BeyoAIE Staining Solution分别为1ml、0.5ml、250 μl和100μl; 对于悬浮细胞样品, 每100万个细胞样品的BeyoAIE Staining Solution为100μl; 对于切片, 可以根据切片大小, 每个切片使用100-200μl。
- b. BeyoAIE Staining Solution的配制。根据样品数量和每个样品所需工作液的体积, 计算出BeyoAIE Staining Solution的总体积。以荧光显微镜检测96孔板为例, 每个孔的用量为100μl, 参照下表进行配制。

Samples	1	10	100
BeyoAIE™ Membrane Red Probe (1000X)	0.1μl	1μl	10μl
Staining Enhancer (400X)	0.25μl	2.5μl	25μl
Assay Buffer	100μl	1ml	10ml
BeyoAIE Staining Solution	~100μl	~1ml	~10ml

注1: 请严格按照上表中组分顺序和体积配制BeyoAIE Staining Solution, 且BeyoAIE™ Membrane Red Probe (1000X)和Staining Enhancer (400X)混匀后再加入Assay Buffer。

注2: 不同细胞的最佳染色浓度略有不同, BeyoAIE Staining Solution的最终浓度建议根据不同细胞系和实验体系进行优化, 可在0.5X-2X之间进行调整。BeyoAIE Staining Solution的最终浓度提高时, Staining Enhancer的用量不变。

注3: 如果BeyoAIE™ Membrane Red Probe本身的染色效果就很好, 也可以不加入Staining Enhancer (400X)。

2. 悬浮活细胞染色。

以100万个细胞为例，每个样品的BeyoAIE Staining Solution为100μl，其它细胞数的检测试剂用量可按比例进行适当调整。

- 400×g，室温离心5分钟，沉淀悬浮培养的约100万个细胞或消化后的重悬的约100万个贴壁细胞，吸除上清。
- 加入100μl BeyoAIE Staining Solution重悬细胞，使其密度为 $1 \times 10^7/\text{ml}$ 左右。
- 37°C避光孵育10-30分钟。不同的细胞最佳孵育时间不同。以10分钟作为初始孵育时间，根据实际所用的细胞优化染色时间，以得到最佳的荧光染色效果。
- 500-1000×g室温离心5分钟。
- 吸除上清液，再次缓慢加入37°C预热的细胞培养液重悬细胞。
- 流式细胞仪检测，或将细胞转移至多孔板、细胞培养皿或者细胞爬片上，在荧光显微镜下观察。BeyoAIE™ Membrane Red Probe的最大激发光波长为493nm，最大发射光波长为610nm。

3. 贴壁活细胞染色。

本步骤以96孔板为例进行描述，其它孔板检测试剂的用量参考96孔板的用量进行适当调整。

- 吸除细胞培养液，用无血清的细胞培养液洗涤细胞2次。
- 每孔加入100μl的BeyoAIE Staining Solution，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。
- 37°C避光孵育10-30分钟。不同的细胞最佳孵育时间不同，根据实际所用的细胞优化染色孵育时间，以得到最佳的荧光染色效果。
- 吸除上清，加入100μl完全培养液即可在荧光显微镜下观察。BeyoAIE™ Membrane Red Probe的最大激发光波长为493nm，最大发射光波长为610nm。

注：使用单细胞悬浮液可以获得更均匀的染色，可以酌情考虑先消化并收集细胞，并重悬后参考悬浮细胞的染色方法进行染色。

4. 染色后的固定和通透。

- 固定：如果样品需要进一步进行免疫荧光染色，建议使用免疫染色固定液(P0098)或4%多聚甲醛固定液(P0099)进行固定。染色的细胞固定后避光保存，荧光染色效果至少可以稳定一周。
- 通透(选做)：建议使用免疫染色通透液(Saponin) (P0095)进行通透。但通透可能会影响BeyoAIE™ Membrane Red Probe在细胞膜的定位并会增加细胞内的染色，具体须根据实验的需求选择合适的细胞通透液。

注1：使用含Triton X-100的通透液可能会导致使荧光淬灭，请避免使用含Triton X-100的通透液进行通透。

注2：如需要封片，建议直接用PBS进行封片。请避免使用含有甘油或其它有机物的封片剂，否则会影响染色并增加荧光背景。

5. 固定后细胞或切片的染色。

- 使用4%多聚甲醛固定液(P0099)或免疫染色固定液(P0098)进行固定。
- 吸除固定液，用PBS洗涤细胞3遍。
- 选做：使用免疫染色通透液(Saponin) (P0095)或免疫染色通透液(Triton X-100) (P0096)进行通透，室温10分钟。然后用PBS洗涤细胞3遍。

注：细胞膜通透会导致荧光强度降低，具体须根据实验的需求进行选择。

- 选做：按照免疫染色的方法进行抗体的孵育或用其它染料进行染色。

注：抗体孵育步骤中的封闭液、抗体稀释液及洗涤液不能含有去垢剂。

- 加入适当体积的BeyoAIE Staining Solution，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞或样品。
- 37°C避光孵育5-20分钟，最佳染色时间需要根据自己的实验条件摸索，以达到最佳的荧光染色效果。
- 吸除细胞膜染色工作液，用PBS洗涤2-3次，随后即可在荧光显微镜下观察。BeyoAIE™ Membrane Red Probe的最大激发光波长为493nm，最大发射光波长为610nm。

参考文献：

- Luo J, Xie Z, Lam JW, Cheng L, et al. Chem Commun (Camb). 2001.(18):1740-1.
- Wang H, Li Q, Alam P, Bai H, et al. ACS Nano. 2023.8;17(15):14347-14405.
- Mei J, Leung NL, Kwok RT, Lam JW, Tang BZ. Chem Rev. 2015.115(21):11718-940.
- Bandyopadhyay S, Kalangi SK, Singh V, Bhosale RS. Prog Mol Biol Transl Sci. 2021. 184:1-9.
- Khandare DG. Prog Mol Biol Transl Sci. 2021. 184:81-99.
- Wang H, Li Q, Alam P, Bai H, Bhalla V, et al. ACS Nano. 2023. 17(15):14347-14405.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C1036	DiI (细胞膜红色荧光探针)	10mg
C1038	DiO (细胞膜绿色荧光探针)	10mg
C1039-10mg	DiD (细胞膜远红外荧光探针)	10mg
C1041	ER-Tracker Red (内质网红色荧光探针)	20μl/100μl/500μl
C1042	ER-Tracker Green (内质网绿色荧光探针)	20μl/100μl/500μl
C1043	Golgi-Tracker Red (高尔基体红色荧光探针)	1mg
C1045S	Golgi-Tracker Green (高尔基体绿色荧光探针)	1mg
C1046	Lyso-Tracker Red (溶酶体红色荧光探针)	50μl
C1047S	Lyso-Tracker Green (溶酶体绿色荧光探针)	50μl

C1048	Mito-Tracker Green (线粒体绿色荧光探针)	50μg
C1049B	Mito-Tracker Red CMXRos (线粒体红色荧光探针)	50μg/250μg
C1050	Tubulin-Tracker Red (抗体法微管红色荧光探针)	40μl
C1051S	Tubulin-Tracker Green (抗体法微管绿色荧光探针)	40μl
C1991S	细胞膜红色荧光染色试剂盒(DiI)	200-1000次
C1993S	细胞膜绿色荧光染色试剂盒(DiO)	200-1000次
C1995S	细胞膜远红外荧光染色试剂盒(DiD)	200-1000次
C2071	细胞膜红色荧光染色试剂盒(PKH26)	50次/250次
C2073	细胞膜绿色荧光染色试剂盒(PKH67)	50次/250次
C2101	BeyoAIE™细胞膜红色荧光染色试剂盒	100次/500次

Version 2025.05.22