

脂质过氧化检测试剂盒(BODIPY 581/591 C11)

产品编号	产品名称	包装
S0043S	脂质过氧化检测试剂盒(BODIPY 581/591 C11)	100-1000次
S0043M	脂质过氧化检测试剂盒(BODIPY 581/591 C11)	500-5000次

产品简介:

- 碧云天生产的脂质过氧化检测试剂盒(BODIPY 581/591 C11) (Lipid Peroxidation Assay Kit with BODIPY 581/591 C11)是一种以BODIPY 581/591 C11为荧光探针,快速高灵敏地检测细胞内脂质过氧化程度变化的试剂盒。本试剂盒可使用荧光显微镜、激光共聚焦显微镜、荧光酶标仪、流式细胞仪等荧光检测系统进行检测。
- 脂质过氧化(Lipid peroxidation, LPO)是许多病理状态的关键变化,会导致一些重要的膜蛋白结构和功能的改变,甚至导致细胞功能障碍和广泛的细胞和组织损伤,和许多疾病的发生密切相关。广泛的脂质过氧化是铁死亡的关键下游特征。铁死亡(Ferroptosis)是一种铁依赖性、与细胞凋亡不同的细胞死亡形式。在二价铁的作用下,细胞抗氧化能力减弱,细胞膜或细胞器膜上含不饱和脂肪酸长链的磷脂分子被过氧化而破坏,造成细胞膜破裂,从而导致调节性细胞死亡(Regulated cell death, RCD),也称程序性细胞死亡(Programmed Cell Death, PCD) [1-3]。
- BODIPY, 即4,4-二氟-5-甲基-4-硼杂-3a,4a-二氮杂-s-引达省-3-月桂酸, 英文名为4,4-Difluoro-5-methyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene-3-dodecanoic acid, 是一种具有强紫外吸收能力的小分子染料,染料间干扰小,光谱很窄,染料分子不带电荷,呈中性,其荧光峰比较尖锐,量子产率高。与大多数长波长染料不同,BODIPY荧光基团本质上是亲脂性的,所以可以模拟天然脂质的性质。该系列染料在不同生理条件下相对稳定,对环境的极性和pH值相对不敏感,由于其结构具有非对称性,故有多种衍生结构产物,BODIPY 581/591 C11即为其中一种。BODIPY 581/591 C11的分子式为 $C_{30}H_{35}BF_2N_2O_2$,分子量为504.42, CAS号为217075-36-0,也称脂质过氧化传感器(Lipid Peroxidation Sensor)、脂质过氧化探针(Lipid Peroxidation Probe)、BODIPY 581/591十一烷酸,具有良好的光稳定性、低荧光伪影特质,可以快速入膜,是一种用于检测活细胞内脂质过氧化及抗氧化能力的荧光探针。其还原态和氧化态,均具有良好的亲脂性,二者处在磷脂双分子层的两个不同区域,均不会自发离开细胞膜磷脂双分子层。BODIPY 581/591 C11对各种氧自由基以及过氧亚硝酸盐灵敏,但对超氧化物、一氧化氮、过渡铁离子和氢过氧化物不灵敏[4-6]。
- BODIPY 581/591 C11的还原态产物最大激发波长为581nm,最大发射波长为591nm,主要为红色荧光,此时红绿荧光比值较大;经脂质过氧化氢物氧化后,激发和发射波长最大值偏移至约488/510nm,主要为绿色荧光,此时红绿荧光比值降低。实际观察时,使用常规的观察红色荧光和绿色荧光的设置即可,并可通过红绿荧光的比值确定脂质过氧化的程度。
- 本试剂盒提供的BODIPY 581/591 C11为2mM储存液。该溶液经过优化,对大多数细胞都适用,但为了得到更满意的结果,对于不同类型的细胞请自行进行一定摸索,BODIPY 581/591 C11的终浓度一般为2-10 μ M,最优先的推荐终浓度为2 μ M。该探针比较灵敏,使用较低浓度就能检测到相应的特异性结果。同时,本试剂盒提供的LpoUp作为诱导细胞内脂质过氧化物生成的阳性对照,终浓度通常为0.5-2X,最优先的推荐终浓度为1X。使用本试剂盒检测细胞内脂质过氧化的效果参考图1。

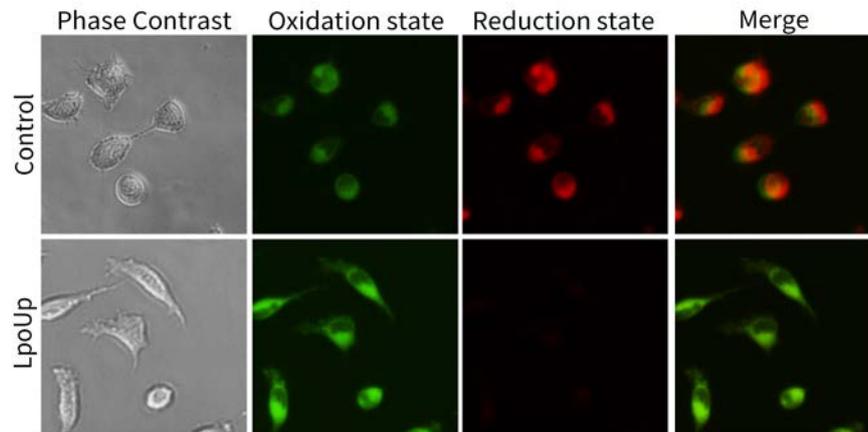


图1. 碧云天脂质过氧化检测试剂盒(BODIPY 581/591 C11) (S0043)检测HeLa细胞(人宫颈癌细胞)脂质过氧化的效果图。HeLa细胞不处理或用阳性对照试剂LpoUp处理后,使用本试剂盒进行染色。正常的HeLa细胞中BODIPY 581/591 C11以还原态形式存在,呈明亮的红色荧光,绿色荧光较弱;使用脂质过氧化的阳性对照试剂LpoUp处理后,荧光发射波长峰值从约590nm偏移至约510nm,因此活细胞内红色荧光强度显著降低,而绿色荧光显著增强。实际检测效果会因实验条件、检测仪器的不同而存在差异,图中效果仅供参考。

- 本试剂盒小包装和中包装，BODIPY 581/591 C11 (2mM)按照1:1000的比例稀释，6孔板每孔检测体系为1ml时，可以分别进行100和500次检测；96孔板每孔检测体系为100μl时，可以分别进行1000和5000次检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
S0043S-1	BODIPY 581/591 C11 (2mM)	100μl
S0043S-2	LpoUp (1000X)	20μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
S0043M-1	BODIPY 581/591 C11 (2mM)	500μl
S0043M-2	LpoUp (1000X)	100μl
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，一年有效。BODIPY 581/591 C11 (2mM)须避光保存，-80°C可保存更长时间。

注意事项：

- BSA和酚红(Phenol red)对本荧光探针的检测有干扰，需避免。
- 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。
- 本试剂盒应在无菌环境中使用，否则可能会影响检测结果。
- 本试剂盒仅限用于活细胞的检测。
- 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(FCP966)或BeyoGold™黑色透明底96孔细胞培养板(平底带盖，独立包装)(FCP965)。
- 第一次使用时请分装成小包装后-20°C或-80°C保存，以尽量避免反复冻融。
- 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. BODIPY 581/591 C11染色工作液的配制：

6孔板每孔所需BODIPY 581/591 C11染色工作液的量为1ml，其它培养器皿的BODIPY 581/591 C11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 BODIPY 581/591 C11染色工作液。取适量BODIPY 581/591 C11 (2mM)，按照每1μl BODIPY 581/591 C11 (2mM)加入1ml PBS (C0221A)的比例稀释BODIPY 581/591 C11，混匀后即成为BODIPY 581/591 C11染色工作液(2μM)。

注1：配制BODIPY 581/591 C11染色工作液时注意避光，且须现配现用，不宜保存后使用。

注2：BODIPY 581/591 C11染色工作液中BODIPY 581/591 C11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。BODIPY 581/591 C11的推荐工作浓度为2μM，可以在2-10μM范围内摸索最佳工作浓度。

2. 阳性对照的设置：

把试剂盒中提供的LpoUp (1000X)推荐按照1:1000的比例加入到细胞培养液中，处理细胞4小时。随后按照步骤3加入BODIPY 581/591 C11染色工作液，进行细胞内脂质过氧化产物的检测。对于大多数细胞，通常LpoUp (1X)处理4小时后脂质过氧化产物含量大量增加，BODIPY 581/591 C11染色后观察应呈较强的绿色荧光，红色荧光减弱；而正常的细胞经BODIPY 581/591 C11染色后应显示较强的红色荧光，绿色荧光较弱。对于特定的细胞，LpoUp作用浓度和作用时间可能有所不同，需自行摸索最佳工作浓度作用时间，甚至某些细胞可能对LpoUp不敏感。

3. 对于悬浮细胞：

- 细胞按照实验设计进行一定处理后，计数。取适当细胞 $600 \times g$ 室温离心5分钟，弃上清，加入适当体积的BODIPY 581/591 C11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10-30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PBS洗涤2次：加入1ml PBS重悬细胞， $600 \times g$ 4°C离心3-4分钟，沉淀细胞，弃上清。再加入1ml PBS重悬细胞， $600 \times g$ 4°C离心3-4分钟，沉淀细胞，弃上清。
- 再用适量PBS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。

4. 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 BODIPY 581/591 C11染色工作液。细胞培养箱中37°C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，根据作用细胞对孵育时间进行适当优化以得到最佳的效果。

- c. 37°C孵育结束后，吸除上清，用PBS洗涤2次。
- d. 加入2ml PBS，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(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。

5. 参数设置：

BODIPY 581/591 C11的还原态产物最大激发和发射波长为581/591nm，荧光参数设置参考碘化丙啶或Cy3；经脂质过氧化氢物氧化后，激发和发射波长最大值偏移至约488/510nm，荧光参数设置参考GFP或FITC。还原态时主要为红色荧光，此时红绿荧光比值较大，氧化态主要为绿色荧光，此时红绿荧光比值降低，可通过红绿荧光的比值确定脂质氧化的程度。

参考文献：

1. Guéraud F, Atalay M, Bresgen N, Cipak A, Eckl PM, et al. Free Radic Res. 2010. 44(10):1098-1124.
2. Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Nat Rev Mol Cell Biol. 2021. 22(4):266-282.
3. Gao M, Monian P, Pan Q, Zhang W, Xiang J, et al. Cell Res. 2016. 26(9):1021-1032.
4. Naguib YM. Anal Biochem. 1998. 265(2):290-298.
5. Drummen GP, van Liebergen LC, Op den Kamp JA, Post JA. Free Radic Biol Med. 2002. 33(4):473-490.
6. Pap EH, Drummen GP, Winter VJ, Kooij TW, Rijken P, et al. FEBS Lett. 1999. 453(3):278-282.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
AG1085	ALDH3A1 Rabbit Monoclonal Antibody	50µl
C2055-1mg	BODIPY 500/510 C1, C12(脂肪酸绿色荧光探针)	1mg
C2055-5mg	BODIPY 500/510 C1, C12(脂肪酸绿色荧光探针)	5mg
C2055-25mg	BODIPY 500/510 C1, C12(脂肪酸绿色荧光探针)	25mg
S0033S	活性氧检测试剂盒	>100次
S0033M	活性氧检测试剂盒	>500次
S0043S	脂质过氧化检测试剂盒(BODIPY 581/591 C11)	100-1000次
S0043M	脂质过氧化检测试剂盒(BODIPY 581/591 C11)	500-5000次
S0131S	脂质氧化(MDA)检测试剂盒	100次
S0131M	脂质氧化(MDA)检测试剂盒	500次
SC0224-5mg	Erastin (Ferroptosis诱导剂)	5mg
SC0224-25mg	Erastin (Ferroptosis诱导剂)	25mg

Version 2024.05.16