



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

脂肪酸摄取荧光检测试剂盒(绿色荧光标记月桂酸)

产品编号	产品名称	包装
S0576S	脂肪酸摄取荧光检测试剂盒(绿色荧光标记月桂酸)	100-1000次
S0576M	脂肪酸摄取荧光检测试剂盒(绿色荧光标记月桂酸)	500-5000次

产品简介:

- 碧云天的脂肪酸摄取荧光检测试剂盒(绿色荧光标记月桂酸) (Fluorometric Fatty Acid Uptake Assay Kit with Lauric Acid Labeled with Green Fluorescence)、也称脂肪酸摄取荧光染色试剂盒、Fluorometric Fatty Acid Uptake Staining Kit、脂肪酸摄取检测试剂盒(Fatty Acid Uptake Kit), 是一种以BODIPY标记的月桂酸为绿色荧光探针, 快速高灵敏地检测细胞脂肪酸摄取能力或进行脂肪酸摄取抑制剂筛选的试剂盒。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。
- BODIPY标记月桂酸(BODIPY-labeled Lauric Acid), 也称BODIPY 500/510 C1, C12、C1-BODIPY 500/510 C12、BODIPY标记十二烷酸, 是一种BODIPY荧光标记的饱和脂肪酸, 可以被细胞摄取而进入细胞内部, 可以对细胞内的极性脂类进行定位示踪, 常作为荧光探针用于脂肪酸摄取、脂质转运、肠道脂质吸收、脂肪或肝脏等组织脂质的吸收和累积等研究, 或作为通用型膜探针针对细胞膜进行染色等, 也可用作各种荧光磷脂的合成前体, 适用于荧光显微镜、激光共聚焦显微镜、流式细胞仪、荧光酶标仪等荧光检测系统。
- 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标记月桂酸即为其中一种。BODIPY标记月桂酸的分子式为 $C_{22}H_{31}BF_2N_2O_2$, 分子量为404.3, 在被活细胞摄取后, 可形成激发二聚体并发射红移荧光, 最大激发波长为500nm, 最大发射波长为510nm。
- **本试剂盒组分齐全, 使用便捷。**本试剂盒提供的BODIPY标记月桂酸为1000X储存液, 该溶液经过优化, 对大多数细胞都适用; 抑制剂阳性对照试剂FA-Blocker是一种脂肪酸转运蛋白的抑制剂, 可抑制脂肪酸转运到细胞中。同时, 本试剂盒提供Assay Buffer, 使用更便捷。本试剂盒也提供了Hoechst 33342染色液, 方便同时观察细胞核染色情况。使用本试剂盒检测HeLa细胞内脂肪酸摄取的效果参考图1和图2。

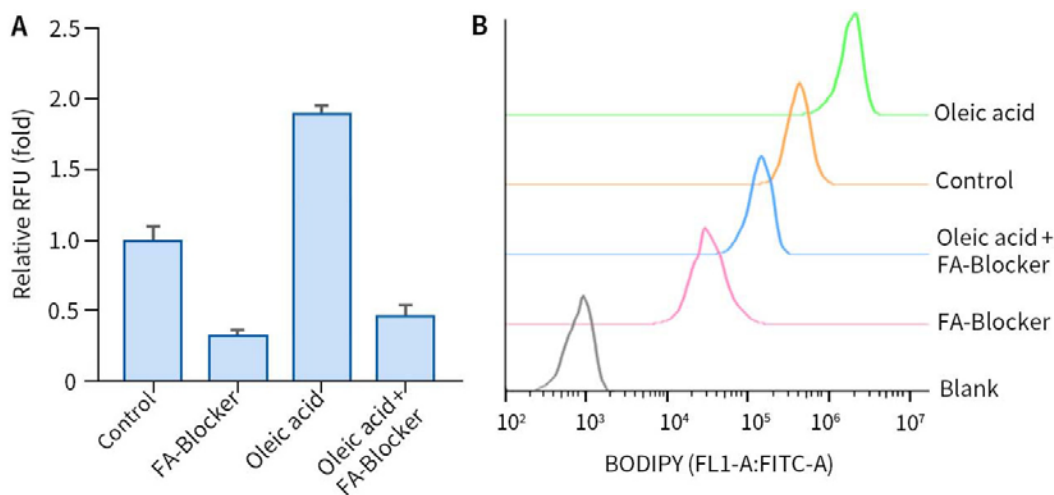


图1. 碧云天脂肪酸摄取荧光检测试剂盒(绿色荧光标记月桂酸) (S0576)对HeLa细胞的荧光酶标仪检测和流式检测效果图。使用脂肪酸转运蛋白抑制剂FA-Blocker处理细胞后, 无论是未经处理的HeLa细胞(Control)还是经油酸(Oleic acid)处理后的HeLa细胞, 经荧光酶标仪检测(图A)和流式细胞仪检测(图B)荧光强度均显著降低(Control与FA-Blocker进行比较; Oleic acid与Oleic acid+FA-Blocker进行对比)。图中酶标仪检测激发波长为500nm, 发射波长为520nm, 波长宽度为5nm, 顶读; 流式细胞仪检测通道为FITC (Ex/Em=488/525)。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。

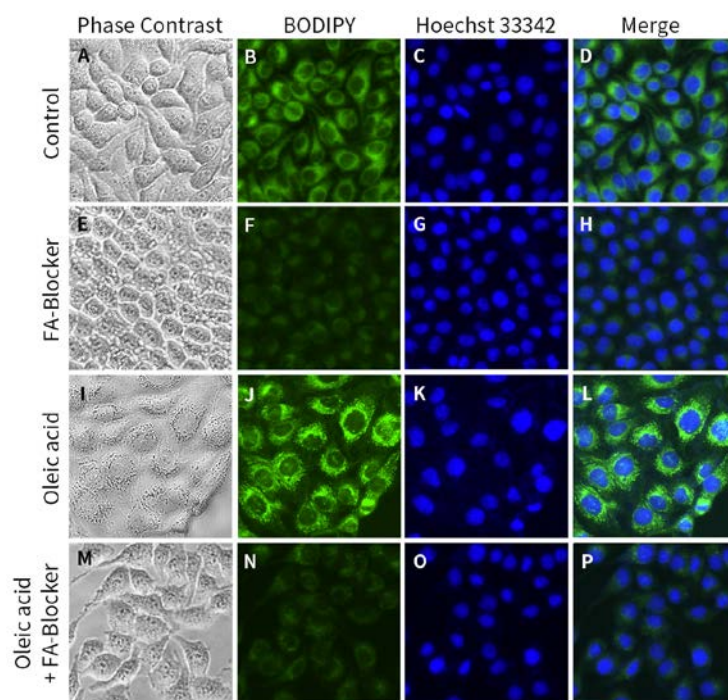


图2. 碧云天脂肪酸摄取荧光检测试剂盒(绿色荧光标记月桂酸) (S0576)对HeLa细胞染色的效果图。图A为正常HeLa细胞在明场状态下的形态；图B为本试剂盒中BODIPY标记月桂酸摄入后的正常细胞，且正常细胞内无明显的脂滴凝聚现象；使用FA-Blocker处理抑制细胞的脂肪酸摄取，荧光强度出现明显减弱(图F)；使用油酸(Oleic acid)处理细胞，荧光强度显著增强，细胞内出现脂滴聚集(图J)，而在油酸处理时同时加入FA-Blocker同样也可抑制脂肪酸摄取(图N)。细胞核使用Hoechst 33342染色。实际染色效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图中效果仅供参考。

- 脂类(Lipid)，又称脂质，是一类不溶于水而能溶于乙醇、乙醚、氯仿、苯等非极性有机溶剂的化合物。脂类是人体重要的宏量营养素之一，其主要生理功能包括储存和供给能量、提供机体必需脂肪酸、构成细胞膜等膜性细胞组分、以及参与细胞的信号转导等。脂类是脂肪酸与醇脱水缩合生成的酯及其衍生物，动物体内主要包括脂肪(Fats)、磷脂(Phospholipids)和类固醇(Steroids)等。脂质加工和运输缺陷是许多代谢性疾病的基础，脂质代谢异常也是导致肥胖、糖尿病、心血管疾病和癌变的主要因素。通过标记不同链长的脂肪酸，可视化脂肪酸的运输和代谢，可以更好地了解代谢功能[1]。BODIPY标记月桂酸常作为荧光探针用于脂肪酸摄取、脂质转运的研究，例如可以溶解在橄榄油中用于小鼠等检测肠道对于脂肪酸的吸收，检测脂肪、肝脏等对于灌胃后脂肪酸的吸收情况，研究血管平滑肌中脂质运输情况，以判断脂毒性在动脉粥样硬化发展中的作用等[2]。
- 对于96孔板中的样品，按照每孔使用100μl脂肪酸摄取工作液计算，本试剂盒的小包装和中包装可以进行1000次和5000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脂肪酸摄取工作液计算，本试剂盒的小包装和中包装可以进行100次和500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，本试剂盒的小包装和中包装可以进行200次和1000次检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
S0576S-1	BODIPY-labeled Lauric Acid (1000X)	100μl
S0576S-2	Hoechst 33342 (1000X)	100μl
S0576S-3	FA-Blocker (1000X)	20μl
S0576S-4	Assay Buffer	100ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
S0576M-1	BODIPY-labeled Lauric Acid (1000X)	500μl
S0576M-2	Hoechst 33342 (1000X)	500μl
S0576M-3	FA-Blocker (1000X)	100μl
S0576M-4	Assay Buffer	500ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20℃保存，至少一年有效。其中BODIPY-labeled Lauric Acid (1000X)和Hoechst 33342 (1000X)须避光保存。

注意事项：

- BODIPY-labeled Lauric Acid (1000X)反复冻融可能对于其检测效果有影响，请适当分装，避免反复冻融。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。
- 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。
- 本产品应在无菌环境中使用，否则可能会影响检测结果。
- 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. 脂肪酸摄取工作液的配制。

对于96孔板和6孔板，每孔需使用100μl和1ml脂肪酸摄取工作液(Working Solution)，其余培养容器可以按比例调整用量。根据样品数量，计算所需脂肪酸摄取工作液的体积。以96孔板每孔100μl脂肪酸摄取工作液的体系为例，参考下表配制检测工作液。

Samples	1	10	50	200
BODIPY-labeled Lauric Acid (1000X)	0.1μl	1μl	5μl	20μl
Hoechst 33342 (1000X)	0.1μl	1μl	5μl	20μl
Assay Buffer	99.8μl	998μl	4.99ml	19.96ml
Working Solution	100μl	1ml	5ml	20ml

- 注1：脂肪酸摄取工作液需现用现配，并一次性使用完毕，不可冻存。
- 注2：脂肪酸摄取工作液中的BODIPY-labeled Lauric Acid (1000X)和Hoechst 33342 (1000X)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，上表中的用量为推荐用量，通常可以在0.2X-2X范围内摸索最佳工作浓度。
- 注3：推荐使用本试剂盒中提供的Assay Buffer，也可以针对特定的细胞选择Assay Buffer之外的其它适当溶液，如含血清完全培养液、无血清培养液、Hanks' Balanced Salt Solution (C0218)或PBS (C0221A)等。
- 注4：Hoechst 33342可以酌情决定是否添加，不添加也完全可以的。

2. 抑制剂对照的设置(选做)。

- 把试剂盒中提供的FA-Blocker (1000X)推荐按照1:1000的比例加入到细胞培养液中，处理细胞24小时，具体处理时间可以根据细胞种类和实验设计适当调整。随后按照下述步骤进行脂肪酸摄取检测。
- 注1：仅在抑制剂对照孔内加入FA-Blocker，其余孔内不必加入FA-Blocker。
- 注2：FA-Blocker实测对于HeLa细胞有良好效果，但可能对某些细胞效果微弱或者完全没有效果。
- 注3：抑制剂或诱导剂可能对细胞增殖有影响。如有必要，可以考虑使用碧云天的CCK-8试剂盒、CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒和BeyoClick™ EdU细胞增殖检测试剂盒等系列产品进行检测，并对脂肪酸摄取结果进行校准处理(Normalization)。

3. 细胞脂肪酸摄取的荧光酶标仪检测。

- a. 接种培养。将细胞接种于96孔板黑色多孔板中，如BeyoGold™黑色透明底96孔细胞培养板(平底带盖，独立包装) (FCP965)，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：细胞接种数量需要考虑到检测时的细胞数量。如果接种后需要培养一段时间或药物处理时间比较长，则需要适当降低接种细胞数量。细胞数量过多或过少，都可能会影响荧光酶标仪的检测效果。
- b. 洗涤。对于贴壁细胞，吸除培养液，用PBS洗涤细胞1遍；对于悬浮细胞，250-1000×g室温离心5分钟，吸除上清，用PBS洗涤1遍。吸除培养液和PBS时最好使用真空泵。
- 注：是否需要使用PBS洗涤细胞，可以根据实验设计自行确定。
- c. 荧光标记脂肪酸摄入。加入适当体积的脂肪酸摄取工作液，通常96孔板每孔加入100μl。37℃避光孵育30分钟。孵育时间可在20-40分钟之间进行调整。
- 注：如果是首次实验不能确定孵育时间，建议先尝试37℃孵育30分钟，观察荧光效果。如果正常细胞荧光太强，则适当缩短时间；如果荧光太弱，则适当延长时间。
- d. 检测。孵育结束后，用PBS或HBSS洗涤1-3次。用荧光酶标仪直接检测(BODIPY-labeled Lauric Acid为绿色荧光，Ex/Em=500/510nm)，例如激发波长为500nm，发射波长为520nm，波长宽度为5nm。也可以酌情吸除液体后，自行加入等量的适当裂解液裂解细胞后进行荧光检测。通过对比对照组与处理组的RFU (Relative fluorescence values)，可以定量计算出处理组的脂肪酸摄取能力的变化。
- 注1：由于不同细胞的脂肪酸摄取能力差异比较大，因此对于不同细胞的脂肪酸摄取的荧光酶标仪检测须进行适当优化以达到较好的检测效果，例如BODIPY-labeled Lauric Acid的浓度、检测时的细胞数量和脂肪酸摄取工作液的孵育时间等。酶标仪的顶读或底读方式可能对检测结果也有一定影响，优先推荐顶读检测。
- 注2：荧光酶标仪检测前，也可以先简单使用荧光显微镜在低倍镜下快速初步地观察细胞的荧光强度，以大致判断脂肪酸摄入实验是否成功。不推荐使用高倍镜观察，高倍镜观察容易导致荧光淬灭而干扰最终的定量结果。
- 注3：为达到最佳的检测效果，激发波长和发射波长可以根据所用荧光酶标仪的具体要求邻近最大激发波长和最大发射波长进行设置，例如对于Thermo的多功能酶标仪VARIOSKAN LUX，当波长宽度设为5nm时，要求激发波长和发射波长至少间隔19nm，此时将激发波长设为500nm、发射波长设为520nm为佳；当波长宽度设为12nm时，则要求激发波长和发射波长至少间隔26nm，此时将激发波长设为490nm、发射波长设为520nm比较合适。通常要求相应的激发波长、发射波长和波长宽度设

置后，用于检测纯水时，不会检测的明显的荧光信号，否则需要重新设置检测波长和波长宽度。

4. 细胞脂肪酸摄取的流式细胞仪检测。

- a. **接种培养。**将细胞接种于6孔板或适当的细胞培养皿中，按实验设计对细胞进行适当处理。
- b. **细胞准备。**贴壁细胞用PBS洗涤一次；悬浮细胞250-1000×g室温离心5分钟，吸除上清，用PBS洗涤一次。每个样品推荐的细胞用量为100万个细胞。
注：是否需要使用PBS洗涤细胞，可以根据实验设计自行确定。
- c. **荧光标记脂肪酸摄入。**对于上一步骤接种于6孔板中的细胞，每孔加入1ml脂肪酸摄取工作液；对于上一步骤的100万个细胞的沉淀，加入1ml脂肪酸摄取工作液，重悬为单细胞悬液。37℃避光孵育20分钟。孵育时间可在10-30分钟之间进行调整。
注：如果是首次实验不能确定孵育时间，建议先尝试37℃孵育20分钟，观察荧光效果。如果正常细胞荧光太强，则适当缩短时间；如果荧光太弱，则适当延长时间。
- d. **检测。**孵育完成后，贴标细胞用PBS或HBSS洗涤1次后用胰酶消化细胞，随后再洗涤一次就可以进行流式细胞仪检测；悬浮细胞用PBS或HBSS洗涤1-3次，可以直接进行流式细胞仪检测。PBS或HBSS重悬细胞沉淀后，也可以250-1000×g室温离心5分钟沉淀细胞，吸净液体后每个样品加入0.5ml Assay Buffer重悬细胞后用流式细胞仪检测。BODIPY-labeled Lauric Acid为绿色荧光，Ex/Em=500/510nm。对于流式细胞仪，推荐用FITC (Ex/Em=488/525)通道进行检测。
注1：由于不同细胞的脂肪酸摄取能力差异比较大，因此对于不同细胞的脂肪酸摄取的荧光酶标仪检测须进行适当优化以达到较好的检测效果，例如BODIPY-labeled Lauric Acid的浓度和细胞数量等。
注2：由于流式细胞仪比较灵敏，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试剂染色情况对BODIPY-labeled Lauric Acid稀释倍数进行适当调整。

5. 细胞脂肪酸摄取的荧光显微镜检测。

- a. **接种培养。**将细胞接种于96孔板等多孔板、细胞培养皿中或者细胞爬片上，按照实验设计对细胞进行适当处理。
- b. **洗涤。**对于贴壁细胞，吸除培养液，用PBS洗涤细胞1遍；对于悬浮细胞，250-1000×g室温离心5分钟，吸除上清，用PBS洗涤1遍。吸除培养液和PBS时最好使用真空泵。在能充分吸净残留液体的情况下，可以不使用PBS洗涤。
注：是否需要使用PBS洗涤细胞，可以根据实验设计自行确定。
- c. **荧光标记脂肪酸摄入。**加入适当体积的脂肪酸摄取工作液。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℃避光孵育20分钟。孵育时间可在10-30分钟之间进行调整。
注：如果是首次实验不能确定孵育时间，建议先尝试37℃孵育20分钟，观察荧光效果。如果正常细胞荧光太强，则适当缩短时间；如果荧光太弱，则适当延长时间。
- d. **检测。**孵育结束后，用PBS或HBSS洗涤1-3次，在荧光显微镜下观察脂肪酸摄取效果(BODIPY-labeled Lauric Acid为绿色荧光，Ex/Em=500/510nm)。Hoechst 33342为蓝色荧光，最大激发波长为346nm，最大发射波长为460nm。

6. 组织脂肪酸摄取的荧光酶标仪检测。

- a. **组织样品的准备。**取约20mg组织样品置于冰浴上，用剪刀剪切成尽量小的碎片，放置于离心管内。如有需要，可以按实验设计对组织样品进行一定处理，例如药物刺激等。
- b. **洗涤。**吸除液体，用PBS洗涤1次。
注：是否需要使用PBS洗涤细胞，可以根据实验设计自行确定。
- c. **荧光标记脂肪酸摄入。**加入适当体积的脂肪酸摄取工作液，通常约20mg组织样品可以加入200μl。37℃避光孵育20分钟。孵育时间可在10-30分钟之间进行调整。孵育期间需要适当混匀，以确保荧光标记脂肪酸能充分摄入。
注：如果是首次实验不能确定孵育时间，建议先尝试37℃孵育20分钟，观察荧光效果。如果正常样品荧光太强，则适当缩短时间；如果荧光太弱，则适当延长时间。
- d. **检测。**孵育结束后，用PBS或HBSS洗涤1-3次。自行加入等量的适当裂解液裂解细胞后进行荧光检测。通过对比对照组与处理组的RFU (Relative fluorescence values)，可以定量计算出处理组的脂肪酸摄取能力的变化。
注1：由于不同组织的脂肪酸摄取能力差异比较大，因此对于不同组织的脂肪酸摄取的荧光酶标仪检测须进行适当优化以达到较好的检测效果，例如BODIPY-labeled Lauric Acid的浓度、检测时的样品量和脂肪酸摄取工作液的孵育时间等。酶标仪的顶读或底读方式可能对检测结果也有一定影响。
注2：荧光酶标仪检测前，也可以先简单使用荧光显微镜在低倍镜下快速初步地观察细胞的荧光强度，以大致判断脂肪酸摄入实验是否成功。不推荐使用高倍镜观察，高倍镜观察容易导致荧光淬灭而干扰最终的定量结果。

参考文献：

1. Carten JD, Bradford MK, Farber SA. Dev Biol. 2011. 360(2):276-285.
2. Mattern HM, Hardin CD. Physiol Res. 2007. 56(2):149-158.

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
C2061	脂滴蓝色荧光探针(LipID-Blue)	0.1ml/0.5ml
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($\geq 99\%$, Cell Culture Grade)	100 μ l/500 μ l/2ml

Version 2025.06.03