天净沙系列

CAT#:4-230745

低温运输，-20℃保存

细胞脂质尼罗红染色试剂盒

Cellular Lipids Nile Red Staining Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

脂质是一种低极性（疏水性）的天然大分子混合物，包括脂肪酸及其衍生甘油酯和磷脂，以及固醇类物质，例如胆固醇。细胞浆脂滴的形成是正常细胞生理过程，脂滴由中性脂质构成，通常为甘油三酯脂滴，为能量储备；少部分为胆固醇酯脂滴，作为过多细胞胆固醇的存储，因此检测细胞脂类物质具有重要意义。为此本公司根据尼罗红（Nile red）染色原理开发了本试剂盒就是基于上述原理开发的细胞脂质染色试剂盒，它具有下列特点：

1. 即开即用，操作简捷，性能稳定，着色清晰。
2. 跟油红 O 和苏丹黑等脂类染料不同，尼罗红不需要有机溶剂，避免了有机溶剂对靶细胞中脂肪结构的破坏。同时背景荧光很低，有时不需要洗涤即可观察结果。
3. 用于各种人体和动物细胞样本的成脂细胞定性、细胞病理学分析和识别研究。能有效区别细胞内脂肪颗粒和细胞膜。
4. 可以检测甘油三酯、胆固醇、胆固醇酯、部分磷脂、脑脂和油酸酯，并且中性脂类和磷脂将呈现不同染色（需要不同波长的激发光）。
5. 起始材料可以是冰冻切片，也可以是培养的活细胞细胞。
6. 可以用于荧光显微镜检测，也可以用于流式细胞分析。
7. 本产品足够至少 250 次滴染法细胞脂质尼罗红切片染色。
8. 检测中性脂类物质需要激发波长为 460-500 nm 和发射波长为 510-560 nm 的荧光检测系统。检测磷脂需要激发波长为 515-560 nm 和发射波长为 580 nm 的荧光检测系统。
9. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用小扁盒包装

成分	编号	规格	包装
尼罗红染色专用固定液	4-230745a	50 mL	60 mL 棕色瓶
200×尼罗红染色液	5-C7185-76-3	0.2 mL	0.5 mL 棕色管
尼罗红稀释液	6-C7185-76-3	50 mL	60 mL 本色瓶
使用手册	4-230745sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为 1 年，避免光照。

自备物品

1×PBS，制备冷冻切片相关仪器和试剂，荧光显微镜。

使用方法

一、新鲜配制尼罗红染色工作液

1. 取出 200×尼罗红染色液和尼罗红稀释液，室温放置使其融化。

2. 根据需要量在弱光环境下用尼罗红稀释液将 200×尼罗红染色液稀释到 1×，得尼罗红染色工作液体。工作液用多少稀释多少，并且必须在 1 小时内使用完毕，未用完的不需要保存。

二、冰冻切片染色

3. 按标准方法制备冷冻切片，厚度最好在 4-5 μm。
4. 室温晾干不超过 15 分钟。
5. 滴加尼罗红专用固定液使之铺满整个切片，室温放置 10-20 分钟。注意：只染色脂类可以跳过固定步骤。但如果需要同时复染其他的细胞器，如细胞核和细胞骨架等，则需要固定。
6. 1×PBS 洗 3 次，每次 1 分钟。
7. 滴加细胞脂质尼罗红染色工作液覆盖切片，室温避光孵育 10 分钟。
8. 1×PBS 清洗切片 1-2 次，每次 30 秒，至无红色染料脱出。
9. 如果需要同时显色其他成份或细胞器，可以在此步复染。建议使用光谱跟尼罗红不重叠的 YOYO1 或 DAPI 染色细胞核，用鬼笔肽-Atto488 染色细胞骨架。如果是肝星状细胞，则不要使用 DAPI，因为肝星状细胞中的视黄醇和维生素 A 的光谱跟 DAPI 的光谱有重叠。
10. 加上盖玻片制备临时切片或使用抗荧光衰减封片剂封片，然后在荧光显微镜下观察：检测中性脂类物质需要激发波长为 460-500 nm 和发射波长为 510-560 nm，中性脂肪将呈现金黄色。检测磷脂需要激发波长为 515-560 nm 和发射波长为 580 nm，磷脂和其它两亲性脂类将呈现橙红色。复染观察所需激发波长和发射波长需要根据所选复染染料决定。

三、贴壁细胞染色

11. 小心吸除培养皿或六孔板里的培养液。
12. 小心加入 1 mL 1×PBS，温柔清洗细胞表面。
13. 重复上步 1-2 次，每次 30 秒。
14. 小心吸除培养皿或六孔板里的清洗液。
15. 加入 1 mL 尼罗红染色专用固定液，覆盖细胞表面，保温 10-15 分钟。注意：只染色脂类可以跳过固定步骤。但如果需要同时复染其他的细胞器，如细胞核和细胞骨架等，则需要固定
16. 小心吸除固定液。
17. 加入 1 mL 1×PBS，清洗细胞表面。
18. 重复上步 1-2 次。

	19. 小心吸除清洗液。 20. 滴加适量尼罗红染色工作液覆盖切片，室温避光孵育 10 分钟。 21. 小心吸除尼罗红染色工作液。 22. 小心加入 1 mL 1×PBS，摇晃清洗细胞表面 30-60 秒。 23. 重复上步操作 1-2 次。 24. 最后一次清洗液不弃去，避光保存 30 分钟后用荧光显微镜下观察（激发波长 543 nnm，发射波长 598 nm）。 **四、流式细胞分析用染色** 25. 按常规操作制备流式细胞分析用的悬浮细胞。 26. 如果细胞成团，需要过 70 μm 尼龙筛。 27. 在每 1 mL 悬浮细胞中加入 2 μL 200×尼罗红染色液，轻柔混匀。同时留一份不加尼罗红染色液的细胞悬浮液作为对照。注意：重悬液不得含有 BSA 或血清等蛋白，因为它们会吸附尼罗红。培养基中常用的水溶性染料不会影响尼罗红染色。 28. 立即进行流式细胞分析。检测中性脂类物质需要激发波长为 460-500 nm 和发射波长为 510-560 nm，中性脂肪将呈现金黄色。检测磷脂需要激发波长为 515-560 nm 和发射波长为 580 nm，磷脂和其它两亲性脂类将呈现橙红色。
关联产品	类脂物质切片染色试剂盒