

脂滴绿色荧光检测试剂盒(LipID-Green)

产品编号	产品名称	包装
C2054S	脂滴绿色荧光检测试剂盒(LipID-Green)	100-1000次
C2054M	脂滴绿色荧光检测试剂盒(LipID-Green)	500-5000次

产品简介:

- 碧云天的脂滴绿色荧光检测试剂盒(LipID-Green), 英文名为Lipid Droplet Green Fluorescence Assay Kit with LipID-Green, 也称LipID-Green Staining Kit或Green Neutral Lipid Stain, 是一种基于新型荧光探针LipID-Green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, CE)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-Green, 是一种亲脂性染料, 适用于脂滴的标记和成像。LipID-Green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DAPI和AF647等)兼容, 支持多色成像的需求。此外, LipID-Green同时适用于固定的细胞和活细胞。
- LipID-Green在乙醇中最大激发光波长约为469nm, 最大发射光波长约为495nm。LipID-Green在乙醇中的激发光和发射光光谱参考图1。

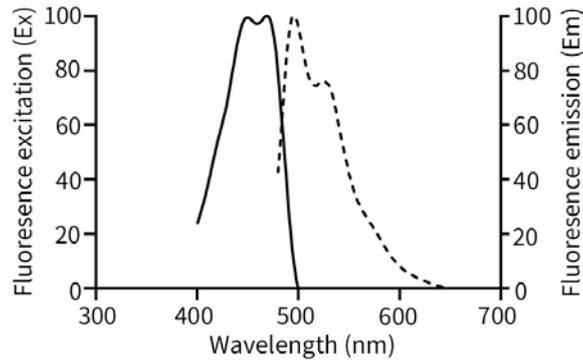


图1. LipID-Green在无水乙醇中的激发光和发射光光谱。

- LipID-Green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, 便发出明亮的绿色荧光。使用本试剂盒检测细胞内脂滴的效果请参考图2。

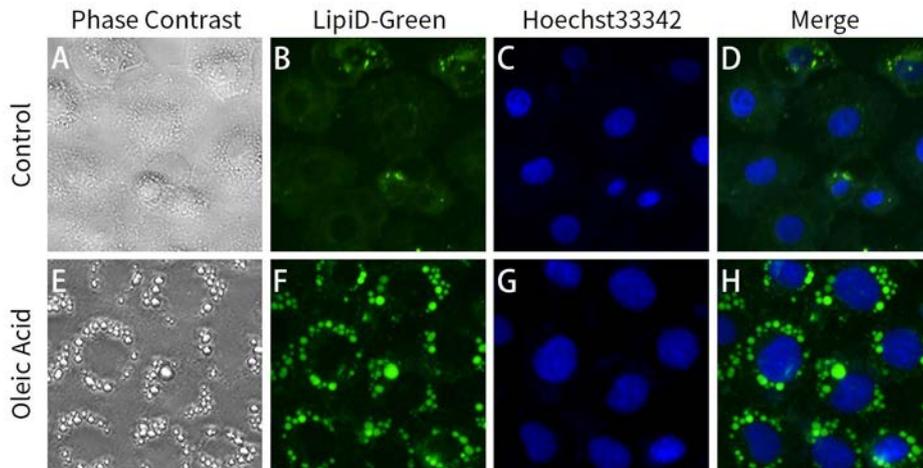


图2. 碧云天脂滴绿色荧光检测试剂盒(LipID-Green) (C2054)检测NRK-52E细胞内脂滴的效果图。图A为正常NRK-52E细胞在显微镜明场下的形态, 正常细胞内无明显的脂滴聚集现象, 因此经LipID-Green (图B)染色后呈较弱的荧光, 主要为散在的微小脂滴染色; 图E为使用400 μ M油酸(Oleic acid) (ST2053)诱导24小时后细胞在显微镜明场下的形态, 此时细胞内有很明显的脂滴聚

集，脂滴经过LipID-Green染色后，呈现非常明亮的荧光(图F)。图C和图G呈现了细胞核的染色效果，图D、H为LipID-Green和Hoechst 33342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。

- 本试剂盒提供了Staining Enhancer，使脂滴染色更加快速，荧光染色更加明亮，染色背景更低。
- 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
C2054S-1	LipID-Green (1000X)	0.1ml
C2054S-2	Hoechst 33342 (1000X)	0.1ml
C2054S-3	Staining Enhancer (100X)	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C2054M-1	LipID-Green (1000X)	0.5ml
C2054M-2	Hoechst 33342 (1000X)	0.5ml
C2054M-3	Staining Enhancer (100X)	5ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，至少一年有效。LipID-Green (1000X)和Hoechst 33342 (1000X)须避光保存。

注意事项：

- 第一次使用时LipID-Green (1000X)建议适当分装，避免反复冻融。
- LipID-Green的工作浓度、细胞量、孵育时间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-Green的浓度对于细胞染色可在0.5X-5X之间适当调整。
- LipID-Green染色工作液配制时可加入Staining Enhancer以增强染色效果。
- 对于LipID-Green的荧光检测，请注意设置好适当的阴性对照，特别是不同荧光通道的阴性对照，以避免出现假阳性的干扰。
- LipID-Green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-Green (1000X)	1µl	10µl	100µl
Hoechst 33342 (1000X)	1µl	10µl	100µl
Staining Enhancer (100X)	10µl	100µl	1ml
Assay Buffer	988µl	9.88ml	98.8ml
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°C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-Green的浓度可以根据染色效果在0.5X-5X之间适当调整。

注3：Staining Enhancer为可选，但Staining Enhancer可使脂滴染色更加快速，荧光染色更加明亮，染色背景更低。

注4：Hoechst 33342染色为可选，可根据实际需求进行选做。Hoechst 33342为蓝色荧光，最大激发波长为346nm，最大发射波长为460nm。

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)。

- 取出待检测的细胞，使用PBS洗涤两遍，吸除PBS。
- 加入4%多聚甲醛固定液(P0099)室温固定10-15分钟。

注1: LipiD-Green和Hoechst 33342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100 μ l, 24孔板每孔加入250 μ l, 12孔板每孔加入500 μ l, 6孔板每孔加入1ml。37 $^{\circ}$ C下避光孵育1小时。如果LipiD-Green荧光信号比较弱, 可以延长至2小时或更长时间。

(c) PBS洗涤两遍。

d. 检测。使用荧光显微镜观察时, LipiD-Green选择使用469nm左右激发, 观察绿色荧光。

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 \times 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 \times 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 \times 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 \times g室温离心5分钟, 弃上清。

注1: LipiD-Green和Hoechst 33342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 $^{\circ}$ C避光孵育1小时。如果LipiD-Green荧光信号比较弱, 可以延长至2小时或更长时间。

(b) 400 \times 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 \times 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-Green光谱特征选择合适的检测条件, 例如Ex/Em=469/495nm。

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-Green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。

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-Green和Hoechst 33342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, 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100 μ l。37 $^{\circ}$ C下避光孵育1小时。如果LipiD-Green荧光信号比较弱, 可以延长至2小时或更长时间。

(c) PBS洗涤两遍。

d. 检测。参考LipiD-Green光谱特征, 选取合适的波长进行读板, 例如Ex/Em=469/495nm。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。

5. 阳性对照的诱导方法。油酸(\geq 99%, Cell Culture Grade) (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 $^{\circ}$ C条件下加热油酸, 使其完全成为液体。

b. 取63 μ l的油酸, 加入到937 μ l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 $^{\circ}$ C, 使用时37 $^{\circ}$ 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400 μ M。
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 $^{\circ}$ 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
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(BODIPY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 2025.05.15