

尼罗红荧光染色溶液

简介:

尼罗红 (9-diethylamino-5H-benzo[alpha]-phenoxazine-5-one; Nile red) 分子式为 $C_{20}H_{18}N_2O_2$, 分子量为 318.37, 是一种脂溶性的荧光染料, 可以准确地将细胞内脂类物质与其他贮藏物区分开, 因此经常被用于检测动物以及微生物细胞内油脂情况。

尼罗红荧光染色法具有快速、简便、灵敏, 样品需求量少且能连续活体检验等优点。它与脂类物质包括蜡酯(wax ester)和三酰甘油(triacylglycerol)以及各种脂肪酸结合后, 在激发波长 543 nm 的激发下, 显示强烈桔红色荧光 (散发波长 598 nm)。同时在紫外光的照射下显示红色。

BIOISCO 尼罗红荧光染色溶液是一种旨在通过与脂类物质的结合并发出荧光检测信号, 快速、敏感、可靠地活体定量测定细胞内脂类成分的常用荧光染料。适用于各种细胞包括细菌细胞, 也用于蛋白质电泳染色。该产品经过严格的灭菌处理, 即拿即用, 但不可用作科研实验外的其余用途。

组成:

产品编号	SL002-500ml	Storage
尼罗红荧光染色溶液	500ml	-20°C 避光
说明书	一份	

保存条件:

-20°C 避光保存, 半年有效。

用户自备:

HANK 平衡盐缓冲溶液或 PBS 缓冲溶液: 用于清理细胞。

胰蛋白酶乙二胺四乙酸混合液: 用于细胞脱离。

完全细胞培养液: 用于细胞处理所需的培养基。

15 毫升锥形离心管: 用于细胞收集的存放。微型台式离心机: 用于细胞沉淀收集。

台式离心机: 用于细胞沉淀收集。

1.5 毫升离心管: 用于细胞检测操作的容器。

2 毫升离心管: 用于染色工作液配制的容器。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线: 0518-81263339

官网:<http://www.bio149.com>

37°C培养箱：用于孵育反应物。

比色皿：用于荧光定量分析。

荧光显微镜：用于观察荧光细胞。

荧光分光光度仪：用于定量检测荧光细胞和脂类产量。

操作步骤（仅供参考）：

方法一、间接法

实验开始前，将试剂盒里的染色液(Reagent A)冻融，置入冰槽里。然后进行下列操作。

- 1、 开启荧光显微镜或荧光分光光度仪。
- 2、 小心抽掉 25 cm² 细胞培养瓶里的培养液。
- 3、 加入 3 毫升用户自备的 HANK 平衡盐缓冲溶液或 PBS 缓冲溶液到细胞培养瓶，覆盖培养瓶表面。
- 4、 小心抽掉清洗液。
- 5、 加入 1 毫升用户自备的胰蛋白酶乙二胺四乙酸混合液，铺满整个培养平面。
- 6、 置入 37°C 培养箱 1 分钟。
- 7、 振动培养瓶，使细胞脱落。
- 8、 加入 5 毫升用户自备的完全细胞培养液。
- 9、 移入 15 毫升锥形离心管。
- 10、 放进台式离心机离心 10 分钟，速度为 300 g。
- 11、 小心抽去上清液。
- 12、 加入 1 毫升用户自备的 HANK 平衡盐缓冲溶液或 PBS 缓冲溶液，充分混匀。
- 13、 移入到新的 1.5 毫升离心管。
- 14、 加入 10 微升染色液(Reagent A)到离心管。
- 15、 用手指轻轻弹动离心管，使其充分混匀。
- 16、 在 37°C 培养箱孵育 10 分钟，避免光照。
- 17、 放进微型台式离心机离心 30 秒，速度为 16000 g。
- 18、 小心抽去上清液。
- 19、 加入 1 毫升用户自备的 HANK 平衡盐缓冲溶液或 PBS 缓冲溶液，充分混匀。
- 20、（选择步骤）放进微型台式离心机离心 30 秒，速度为 16000 g。
- 21、（选择步骤）小心抽去上清液。
- 22、（选择步骤）加入 1 毫升用户自备的 HANK 平衡盐缓冲溶液或 PBS 缓冲溶液，充分混匀
- 23、 检测方法。
 - A) 荧光显微镜定性分析
 - 1) 移出 10 微升离心管中的混匀物到载玻片上。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



- 2) 放上盖玻片或封片。
- 3) 在荧光显微镜下观察荧光细胞：激发波长 543 nm，散发波长 598 nm——显示强烈桔红色荧光细胞的为脂类丰富的阳性细胞。

B) 荧光分光光度计定量分析

- 1) 移取 1 毫升细胞悬液到 1 毫升比色皿。
- 2) 放进荧光分光光度计测读：激发波长 543 nm，散发波长 598 nm——确定活体细胞脂类产量。

方法二：直接法

实验开始前，将试剂盒里的染色液(Reagent A)冻融，然后移出 2 毫升用户自备的 HANK 平衡盐缓冲溶液或 PBS 缓冲溶液到 2 毫升离心管，加入 10 微升染色液(Reagent A)，混匀后，置入冰槽里，标记为染色工作液。然后进行下列操作。

- 1、 开启荧光显微镜。
- 2、 小心抽掉 25 cm² 细胞培养瓶里的培养液。
- 3、 加入 3 毫升用户自备的 HANK 平衡盐缓冲溶液或 PBS 缓冲溶液到细胞培养瓶，覆盖培养瓶表面。
- 4、 小心抽掉清洗液。
- 5、 加入 2 毫升染色工作液。
- 6、 在 37°C 培养箱孵育 10 分钟，避免光照。
- 7、 在荧光显微镜下观察荧光细胞：激发波长 543 nm，散发波长 598 nm——显示强烈桔红色荧光细胞的为脂类丰富的阳性细胞。

注意事项：

- 1、 本产品为 500 毫升（0.5 毫克/毫升）规格。
- 2、 操作时须戴手套。
- 3、 用户可以参考本产品的操作步骤用于细胞分析。
- 4、 本产品可用于识别、定量、以及动态观察细胞脂类物质变化。
- 5、 尼罗红为通透性的染料，可以自由进入细胞。
- 6、 根据细胞株的差异，可以适当调整染料剂量，以增强或降低荧光强度。
- 7、 细胞培养液里避免使用脂类物质。
- 8、 孵育时，必须避免光照。
- 9、 使用时，避免污染母液。
- 10、 建议细胞染色完成后，即刻进行荧光检测分析。
- 11、 荧光波长可以用激发波长 475 nm，散发波长 580 nm 替代。

