

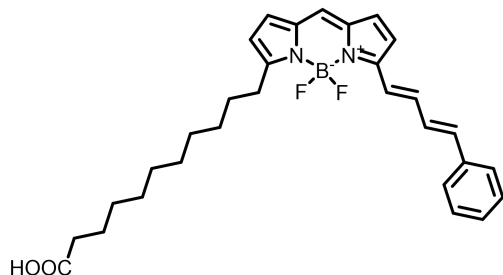
脂质过氧化传感器 (Lipid Peroxidation Sensor)

C11-BODIPY 581/591

使用说明

产品编号: YM0003

一、化学结构:



名称: C11-BODIPY 581/591

分子式: $C_{30}H_{35}BF_2N_2O_2$

分子量: 504.2760

二、检测原理:

C11-BODIPY 581/591 是一种新型的对 Lipid ROS 高选择性、高灵敏的脂质过氧化传感器, 与其他 ROS 捕获探针不同之处在于, C11-BODIPY 581/591 具有好的亲脂性可以快速入膜, 随后可以选择性的对细胞内和细胞膜中的脂质过氧化(Lipid ROS)进行捕获, 并在氧化后仍保持亲脂性, 不会离开脂质膜, 该过程同时伴随荧光信号变化。多用于荧光显微镜、流式细胞分析等对 Lipid ROS 的可视化监测。

C11-BODIPY 581/591 结构中多不饱和二烯基在 Lipid ROS 催化氧化后, 其荧光发射峰从 590 nm 偏移至 510 nm。

三、使用方法:

1. 样品溶解:

商品开封后, 离心机轻甩; 随后加入适量 DMSO 进行溶解, 溶解度至少可达 25mg/mL。溶解后建议分装-20℃避光保存, 尽量避免反复冻融, 防止吸潮。

【注】: 样品轻甩目的是为了减少痕量的探针吸附管壁损失样本。

2. 样品使用:

1) 流式细胞分析:

- 悬浮细胞: 800 g 离心 5 min 收集细胞沉淀; 随后 PBS 洗涤细胞两遍。
- 贴壁细胞: 弃培养液, 用常温 PBS 或培养液轻洗细胞 2 次, 随后胰酶消化, 800g 离心 5 min 收集细胞沉淀, 随后 PBS 洗涤细胞两遍, 每个样本收集 $1\sim5 \times 10^5$ 个细胞。**(注意: 操作过程中轻柔吹打细胞, 消化时间不宜过长, 剧烈吹打或胰酶消化过度会影响实验结果)**
- C11-BODIPY 581/591 用于脂质过氧化检测的推荐浓度为终浓度 5 μ M; 配制方法: 用新鲜空白培养液配制终浓度为 5 μ M 的 C11-BODIPY 581/591 染色液待用, DMSO 含量 \leq 5%。**(注意: 该步操作建议在消化细胞前准备好, 以免细胞消化后久置影响实验结果)**
- 将事先配置好的脂质过氧化染色液加入收集的细胞沉淀中, 推荐体积为 500 μ L, 随后置于 37℃ 孵箱, 染色 30min, 期间 5-10min 间隔轻弹细胞使其悬浮保证染色更充分。
- 染色结束后, 800 g 离心 5 min, 弃上清, 随后用 PBS 清洗细胞 2 次, 加入 200 μ L PBS 重悬细胞用于流式分析。

2) 原位成像:

- 接种适当密度的细胞于 20mm 规格的盖玻片上 (也可用共聚焦小皿替代), 给予实验药物处理适当时间后, 吸去培养液, 用 PBS 洗涤细胞一遍;

加入 500 μ L 配制好的脂质过氧化染色液，于 37 $^{\circ}$ C 染色 30min；（配制方法参考流式分析中的染色液配制）

➤ 弃培养液，PBS 洗涤细胞两遍后于荧光显微镜或激光共聚焦下进行成像检测。细胞在染色后应在 1 h 之内完成检测。

3) 检测条件:

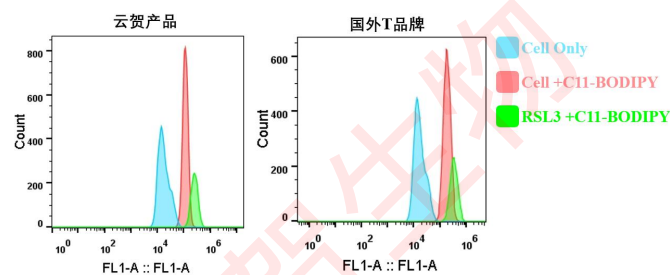
该分子探针在还原状态下最佳激发波长为 581 nm，发射为 591nm；被 Lipid ROS 氧化后最佳激发波长为 500 nm，发射在 510nm。因此，在流式分析中检测通道为 FL1-A；激光共聚焦检测：氧化态激发波长可选 488nm（FITC）通道；还原态激发波长可选 561 nm（TRITC）通道。

注意事项:

1. 此试剂盒仅供科研使用。
2. 使用前小心离心数秒取用，需佩戴手套操作，注意避免与皮肤、眼睛和黏膜接触。
3. 本试剂盒可用检测活细胞中 Lipid ROS 水平，用于评价细胞铁死亡状态。

流式分析实验范例:

使用本试剂检测 10 μ M RSL3（铁死亡经典诱导剂）处理 A549 细胞 24 h 后的细胞脂质过氧化水平的流式检测。



流式分析效果图

原位成像实验范例:

下图为 RSL3（10 μ M）处理 A549 细胞 24 h 后，使用本试剂（5 μ M）对活细胞中脂质过氧化水平进行原位染色后激光共聚焦成像结果。

