

BODIPY 581/591 C11 脂质过氧化检测荧光探针

Lipid Peroxidation Probe, BODIPY 581/591 C11

产品编号	产品名称	包装规格
NBS0267-1mg	BODIPY 581/591 C11 脂质过氧化检测荧光探针	1mg

产品简介:

脂质过氧化物是由不饱和脂肪酸在活性氧的作用下生成的物质。这些过氧化脂质会进一步氧化脂质，从而在连锁反应中不断积累脂质过氧化物。过量的脂质过氧化物会分解成丙烯醛（Acrolein）、丙二醛（Malondialdehyde, MDA）、4-羟基-2-壬烯醛（4-Hydroxy-2-nonenal, 4-NHE）等高活性醛类物质，对细胞产生毒性，导致细胞死亡。此外，当细胞内二价铁离子浓度过高时，过量的二价铁离子会与活性氧共同作用，导致细胞内脂质过氧化物的积累，引发铁死亡。因此，细胞内的脂质过氧化物水平对人体产生多方面影响，甚至可能引发包括动脉硬化在内的多种疾病。

BODIPY 581/591 C11 脂质过氧化检测荧光探针是一种能够检测脂质过氧化物形成的荧光探针。这种探针对脂质过氧化物本身无反应，但能与脂质过氧化过程中的脂质自由基等发生反应，从而检测细胞内脂质过氧化水平。该荧光探针在正常状态下发出红色荧光，随着脂质氧化的进行，荧光从红色变为绿色。通过红色和绿色两种颜色荧光强度的比值，可以高灵敏度地检测脂质过氧化物的形成。

BODIPY 581/591 C11 脂质过氧化检测荧光探针是一种脂溶性的比率型荧光探针，用于模式膜系统和活细胞中指示脂质过氧化和抗氧化性能。该探针具有以下优点：①发射波长位于电磁波谱的可见光区域，非氧化态（591nm）和氧化态（510nm）的光谱能够很好地分离；②具有高量子产率，因此即使使用低标记浓度，也能确保对膜的干扰最小，同时保持良好的信噪比；③光稳定性好，产生的荧光伪影低；④对环境变化如 pH 或溶剂极性基本不敏感；⑤亲脂性，易于进入膜结构；⑥一旦氧化，探针保持亲脂性，不会自发离开脂质双分子层；⑦非氧化态和氧化态在脂质双分子层内的定位不同，一种位于较浅层（距离双分子层中心约 18 埃），一种位于较深层（距离双分子层中心小于 7.5 埃）；⑧高达 50 μ M 的浓度对大鼠成纤维细胞无毒性；⑨对各种氧自由基和过氧亚硝酸盐敏感，但对超氧化物、一氧化氮、过渡铁离子和氢过氧化物不敏感；⑩其氧化灵敏度与内源性脂肪酰基团相当。BODIPY 581/591 C11 脂质过氧化检测荧光探针可用于定量检测铁死亡。

保存条件:

-20°C避光保存 (两年有效)

化学及光谱特性:

分子量	溶剂	激发光 (nm)	发射光 (nm)
504.4	DMSO	581 (非氧化态)	591 (非氧化态)
		500 (氧化态)	510 (氧化态)

各检测仪器的推荐的检测波长和滤光片:

检测仪器	荧光酶标仪	荧光显微镜	流式细胞仪
绿色荧光	Excitation: 480-500 nm Emission: 520-540 nm	共聚焦显微镜: Ex: 488 nm; Em: 510-550 nm 普通荧光显微镜: GFP 或 FITC Filter	FITC Filter
红色荧光	Excitation: 550-570 nm Emission: 590-610 nm	共聚焦显微镜: Ex: 561 nm; Em: 600-630 nm 普通荧光显微镜: Texas Red 或 Cy3 Filter	Cy3 Filter

母液制备 (1mg 本品):

母液浓度	加入 DMSO
1mM	1.9825ml
2mM	991.24μl
5mM	396.5μl
10mM	198.2μl

产品使用：

1. BODIPY 581/591 C11 的配制：

- 1) 母液配制：使用高纯度无水 DMSO 将 1mg BODIPY 581/591 C11 配制成 1-10mM 母液 (推荐 2mM 浓度)。注意：第一次使用时请将配制好的母液分装成小包装后 -20°C 或 -80°C 避光保存，以避免反复冻融。
- 2) 工作液配制：使用 PBS 或者培养基将母液稀释 1000 倍配制成工作液 (推荐 2 μ M 浓度)。但因不同细胞系和实验体系，可通过预实验在 2-10 μ M 范围内摸索最佳工作浓度。注意：配制 BODIPY 581/591 C11 染色工作液时注意避光，且须现配现用，不宜保存后使用。

工作液使用量推荐：对于贴壁细胞，6 孔板每孔所需 BODIPY 581/591 C11 染色工作液的量为 1ml，96 孔板所需的工作液为 100 μ l，其它培养器皿的染色工作液的用量以此类推；对于细胞悬液每 50-100 万细胞需 0.5ml BODIPY 581/591 C11 染色工作液。

2. 阳性对照的设置 (可选)：

将叔丁基过氧化氢 (t-BHP) 按照 200 μ M 的浓度加入到细胞培养液中，处理细胞 2-4h。随后按照步骤 3/4 加入 BODIPY 581/591 C11 染色工作液，进行细胞内脂质过氧化产物的检测。

3. 对于悬浮细胞：

- 1) 细胞按照实验设计进行一定处理后，计数。取适当细胞 600 \times g 室温离心 5min，弃上清，加入适当体积的 BODIPY 581/591 C11 染色工作液重悬细胞，使细胞密度为 100 万-1000 万/ml。
- 2) 细胞培养箱中 37°C 孵育 10-30min，不同的细胞最佳孵育时间不同。以 20min 作为初始孵育时间，根据作用细胞对孵育时间进行适当优化以得到最佳的效果。
- 3) 37°C 孵育结束后，600 \times g 4°C 离心 3-4min，沉淀细胞。弃上清，注意尽量不要吸除细胞。
- 4) 用 PBS 洗涤 2 次：加入 1ml PBS 重悬细胞，600 \times g 4°C 离心 3-4min，沉淀细胞，弃上清。再加入 1ml PBS 重悬细胞，600 \times g 4°C 离心 3-4min，沉淀细胞，弃上清。
- 5) 再用适量 PBS 重悬细胞后，用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察，也可以用荧光分光光度计检测或流式细胞仪分析。

4. 对于贴壁细胞：

注：对于贴壁细胞，如果希望采用流式细胞仪检测，可以先消化并收集细胞，重悬后参考悬浮细胞的检测方法。

- 1) 对于 6 孔板的一个孔，吸除培养液，根据具体实验，如有必要可以用 PBS 或其它适当溶液洗涤细胞一次。如果使用其它的多孔板，各种试剂的用量需要相应按比例调整。
- 2) 加入 1ml BODIPY 581/591 C11 染色工作液。细胞培养箱中 37°C 孵育 10-30min，不同的细胞最佳孵育时间不同。以 10min 作为初始孵育时间，根据作用细胞对孵育时间进行适当优化以得到最佳的效果。
- 3) 37°C 孵育结束后，吸除上清，用 PBS 洗涤 2 次。
- 4) 加入 2ml PBS，荧光显微镜或激光共聚焦显微镜下观察。如果考虑使用荧光酶标仪检测，优先推荐使用全黑 96 孔细胞培养板或黑色透明底 96 孔细胞培养板，分别进行顶读或底读模式进行荧光检测。

注意事项：

1. 荧光探针均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
2. 本试剂盒仅限用于活细胞的检测。
3. 不建议使用除说明书以外的缓冲液制备工作溶液。BODIPY 581/591 C11 具有高脂溶性，在无血清培养基中制备可能导致探针沉积，请使用含血清培养基进行制备。。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！