

Lipi-Blue 货号：LD01 规格：10 nmol × 1  
 Lipi-Green 货号：LD02 规格：10 nmol × 1  
 Lipi-Red 货号：LD03 规格：100 nmol × 1

脂滴荧光探针 (系列)  
*Technical Manual*

## 概述

脂滴 (脂肪滴, Lipid droplets, LDs) 由中性脂肪组成, 主要包括甘油三酯和胆固醇酯, 其外层被一层单层磷脂分子包裹。而且脂滴不仅在脂肪细胞中存在, 在其他细胞中也普遍存在。最新的研究表明, 脂滴并非细胞内一个简单的脂质储存器, 其在调节脂质代谢<sup>1)</sup>, 自噬<sup>2)</sup> 和细胞衰老<sup>3)</sup> 等方面都起着重要作用, 因此需要进一步详细地研究脂滴形成·成长·融合·分解的机制。Lipi系列探针是高脂肪亲油性小分子探针, 可在疏水环境例如脂滴中发出强荧光。Lipi探针染色后, 无须洗涤即可观察到脂滴。

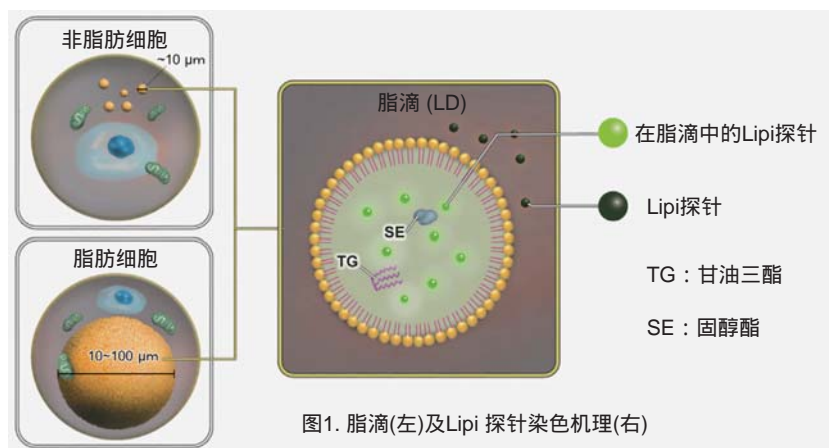


图1. 脂滴(左)及Lipi 探针染色机理(右)

## 试剂内含

LD01 Lipi-Blue ..... 10 nmol × 1  
 LD02 Lipi-Green ..... 10 nmol × 1  
 LD03 Lipi-Red ..... 100 nmol × 1

使用35 mm培养皿可以检测50次

(终浓度分别为: Lipi-Blue和 Lipi-Green: 0.1 μmol/l, Lipi-Red: 1 μmol/l)

## 储存条件

在冷暗处保存

## 所需的设备和材料

- Dimethyl sulfoxide (DMSO)      - PBS      - 移液器

## Lipi系列探针的荧光特性

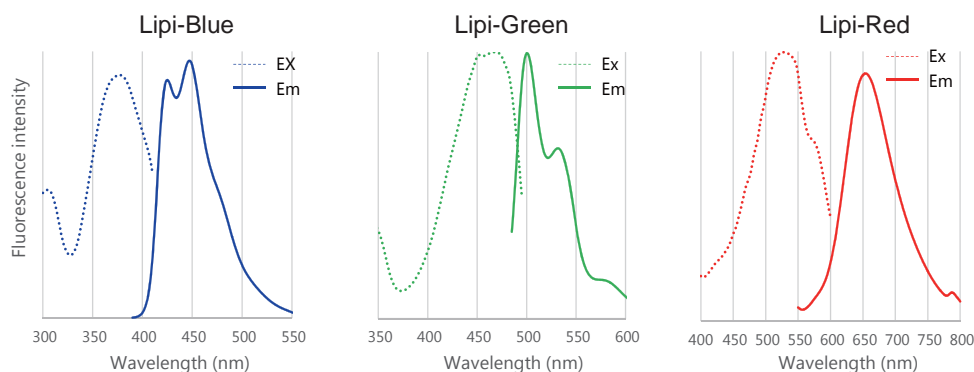


图2. Lipi-Blue, Lipi-Green和 Lipi-Red的激发和发射光谱

## 溶液制备

### 配制Lipi 系列探针的DMSO储存液

- 配制0.1 mmol/l Lipi-Blue DMSO储存液: 在Lipi-Blue管中加入100 μl DMSO, 并吹打混匀。
- 配制0.1 mmol/l Lipi-Green DMSO储存液: 在Lipi-Green管中加入100 μl DMSO, 并吹打混匀。
- 配制1 mmol/l Lipi-Red DMSO储存液: 在Lipi-Red管中加入100 μl DMSO, 并吹打混匀。

将DMSO储存液保存于-20 °C, 可稳定保存一个月。

## 实验步骤

### 配制Lipi系列探针的工作液

#### - 配制Lipi-Blue工作液：

用PBS或不含血清的培养基稀释0.1 mmol/l Lipi-Blue DMSO储存液，配制成终浓度为0.1-0.5  $\mu\text{mol/l}$ 的工作液

如果染色后荧光强度不够，可以提高工作液浓度至1-2  $\mu\text{mol/l}$ 。

#### - 配制Lipi-Green工作液：

用PBS或不含血清的培养基稀释0.1 mmol/l Lipi-Green DMSO储存液，配制成终浓度为0.1-0.5  $\mu\text{mol/l}$ 的工作液

如果染色后荧光强度不够，可以提高工作液浓度至1-2  $\mu\text{mol/l}$ 。

#### - 配制 Lipi-Red工作液：

用PBS或不含血清的培养基稀释1 mmol/l Lipi-Red DMSO储存液，配制成终浓度为1-5  $\mu\text{mol/l}$ 的工作液

如果染色后荧光强度不够，可以提高工作液浓度至10-20  $\mu\text{mol/l}$ 。

### 工作液需要现配现用

含血清的培养基也可以代替无血清培养基使用。

为了达到最佳的染色效果，初次实验，建议根据细胞实际情况摸索最适探针浓度与染色时间。

1. 在培养皿上接种细胞用于测定。细胞在37  $^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中过夜培养。

2. 去除培养基，用PBS洗涤细胞2次。

3. 加入Lipi系列工作液，在37  $^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中培养30 min。

培养时间通常是30 min，但如果检测到的荧光效果不佳可延长至1-2 h。

4. 在荧光显微镜下观察细胞。

有些细胞的脂滴小，如果难以确认，建议在高倍镜下观察，或用油酸处理细胞作为阳性对照进行观察评价。

## 实验例

### 实验例1：用油酸诱导脂滴形成 (HeLa细胞)

1. 将HeLa细胞接种在  $\mu$ -Slide 8孔板上，并在37  $^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中过夜培养。

2. 除去上清液，用无血清培养基洗涤细胞2次。

3. 将含有200  $\mu\text{mol/l}$ 油酸的DMEM (10% FBS/1% PS) 加入各孔中，在37  $^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中过夜培养。

4. 除去上清液，用无血清培养基洗涤细胞2次。

5. 加入用无血清培养基配制的工作液后，在37  $^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中培养30 min。

6. 在荧光显微镜下观察细胞。

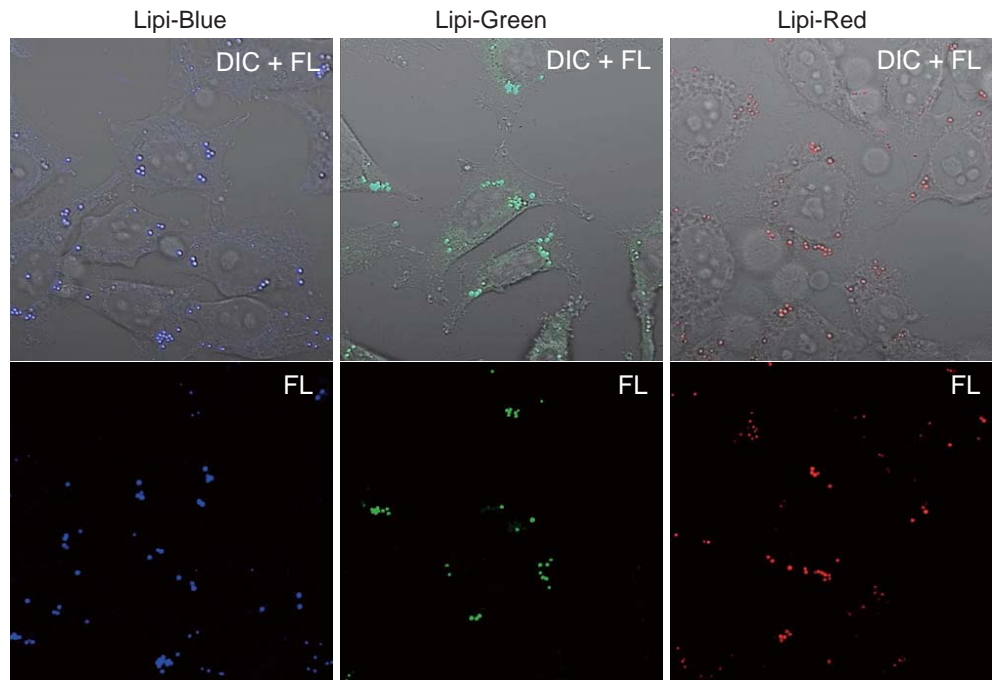


图3. 诱导脂滴形成荧光图(HeLa细胞)

\* Lipi-Blue

(探针浓度: 0.1  $\mu\text{mol/l}$ )

(Ex: 405 nm, Em: 450 - 500 nm)

\* Lipi-Green

(探针浓度: 0.1  $\mu\text{mol/l}$ )

(Ex: 488 nm, Em: 500 - 550 nm)

\* Lipi-Red

(探针浓度: 1  $\mu\text{mol/l}$ )

(Ex: 561 nm, Em: 565 - 650 nm)

### 实验例2：用Triacsin C抑制脂滴的形成 (HepG2细胞)

1. 将HepG2细胞接种于  $\mu$ -Slide 8孔板上，并在37 5% CO<sub>2</sub>培养箱中过夜培养。
2. 去除上清液，用无血清培养基洗涤细胞2次。
3. 将含5  $\mu$ mol/l的Triacsin C的含血清培养基加入到各孔中，在37 5% CO<sub>2</sub>培养箱中过夜培养。
4. 去除上清液，用无血清培养基洗涤细胞2次。
5. 加入用无血清培养基配制的工作液后，在37 5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养30 min。
6. 在荧光显微镜下观察细胞。

\* Triacsin C是一种抑制脂滴形成的抑制剂

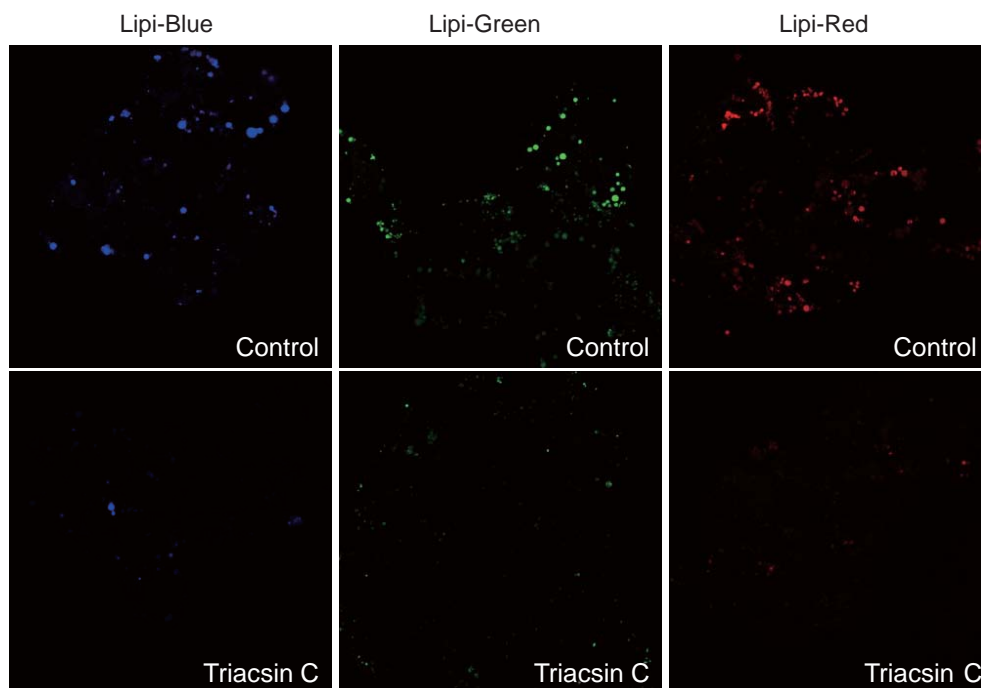


图4. 抑制脂滴形成的荧光图(HepG2细胞)

\* Lipi-Blue

(探针浓度: 0.1  $\mu$ mol/l)

(Ex: 405 nm, Em: 450 – 500 nm)

\* Lipi-Green

(探针浓度: 0.1  $\mu$ mol/l)

(Ex: 488 nm, Em: 500 – 550 nm)

\* Lipi-Red

(探针浓度: 1  $\mu$ mol/l)

(Ex: 561 nm, Em: 565 – 650 nm)

## Q&A

Q：是否可以对固定细胞进行染色？

A：可以染色，固定细胞的染色步骤有以下注意事项：

请用多聚甲醛 (PFA) 固定细胞，不建议用甲醇等醇类固定细胞，因为可能会影响脂滴的结构。

部分细胞种类染色后，如果在固定细胞过程中出现无染色或染色强度不够的情况，需要摸索最佳固定条件。

细胞染色后固定实验例 (以HepG2细胞为例)

1. 将HepG2细胞接种在 $\mu$ -Slide 8孔板上，并在37 5% CO<sub>2</sub>培养箱中过夜培养。
2. 去除培养基，用PBS清洗2次。
3. 在细胞中加入用PBS配制的Lipi工作液，在37 培养箱中培养15 min。
4. 去除上清液，用PBS清洗2次。
5. 加入4% PFA (在PBS中)，在室温固定5 min。
6. 去除上清液，用PBS清洗后，在荧光显微镜下观察。

细胞染色前固定实验例 (以HeLa细胞为例)

1. 将HeLa细胞接种在 $\mu$ -Slide 8孔板上，并在37 5% CO<sub>2</sub>培养箱中过夜培养。
2. 去除培养基，用PBS清洗2次。
3. 加入4% PFA (在PBS中)，在室温固定5 min。
4. 去除上清液，用PBS清洗2次。
5. 在细胞中加入用PBS配制的Lipi工作液，在37 培养箱中培养30 min。
6. 去除上清液，用PBS清洗后，在荧光显微镜下观察。

## 关联产品

	产品名称	货号	规格
线粒体荧光探针	MitoBright Green	MT06	50 µg × 3
	MitoBright Red	MT07	50 µg × 3
	MitoBright Deep Red	MT08	50 µg × 3
线粒体自噬	Mitophagy Detection Kit	MD01	1 set
自噬	DALGreen - Autophagy Detection	D675	20 nmol
	DAPGreen - Autophagy Detection	D676	5 nmol
细胞衰老	Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER - βGal	SG03	10 assays
脂质过氧化物	Liperfluo	L248	50 µg × 5
细胞核染色	DAPI	D212	1 mg

## 参考文献

- 1) Fujimoto, T. *et al.*, Lipid droplets: a classic organelle with new outfits , *Histochem Cell Biol.*, **2008**, 130(2), 263-279.
- 2) Singh, R. *et al.*, Autophagy regulates lipid metabolism, *Nature*, **2009**, 458(7242), 1131-1135.
- 3) Yokoyama, M. *et al.*, Inhibition of Endothelial p53 Improves Metabolic Abnormalities Related to Dietary Obesity , *Cell Reports*, **2014**, 7(5), 1691-1703.

 **东仁化学科技 (上海) 有限公司**

如果您需要更多的信息或者有任何问题可以通过以下方式联系我们：

网址：<http://www.dojindo.cn>

上海

上海市零陵路899号飞洲国际广场27楼J座

邮编：200030

电话：400-823-9388

E-mail: [info@dojindo.cn](mailto:info@dojindo.cn)

北京

北京市朝阳区德外马甸裕民路12号元辰鑫大厦E1-210室

邮编：100029

电话：010-8225-1765

2018年11月