

概述

核仁是不带膜的核内结构体，也是核糖体生物合成的起点。核仁中存在许多核糖体RNA (rRNA)，并且是rRNA基因转录以及合成加工的场所。由于蛋白质合成的早期阶段在核仁中进行，因此核仁的变化被认为与多种细胞活动有关。核仁的形态变化已被公认为判断癌症的指标之一，近年来也有一系列的报道论述了核仁应激与DNA损伤¹⁾、自噬²⁾、病毒感染³⁾和细胞衰老^{4) 5)}的关系，因此核仁在这些方面的研究也受到越来越多的关注。Nucleolus Bright染料是一种小分子荧光染料，与核仁中的RNA结合并产生荧光，染色之后无需进行清洗步骤即可观察核仁。

本产品是在熊本大学发生医学研究所细胞医学系中尾光善老师的指导下开发的。

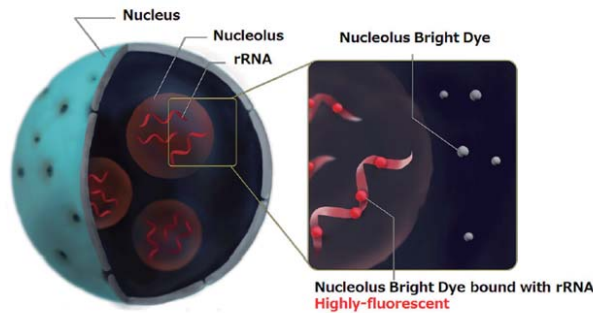


图1. 核仁荧光染色原理

试剂内含

N511 Nucleolus Bright Green 60 nmol × 1

N512 Nucleolus Bright Red 60 nmol × 1

储存条件

Nucleolus Bright Green 避光，在冷暗处保存

Nucleolus Bright Red 在冷暗处保存

所需的设备和材料

- 二甲基亚砷 (DMSO) - PBS - 移液器

荧光特性

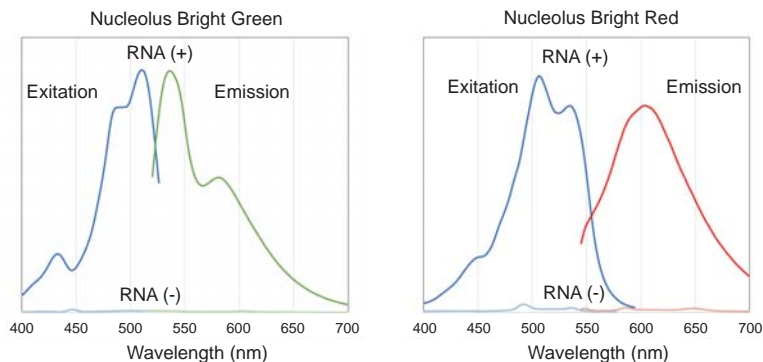


图2. Nucleolus Bright Green、Red的荧光激发/发射光谱图

溶液配制

配制1 mmol/l Nucleolus Bright储存液

向含有60 nmol染料管子中加入60 μl DMSO，并用移液器吹打溶解，配制成1 mmol/l 的储存液。

配制好的储存液在-20 °C下避光可稳定保存1个月

配制Nucleolus Bright工作液

用PBS稀释储存液200-2,000倍，配制成0.5-5 μmol/l的工作液。

用35 mm培养皿，当染料的终浓度为1 μmol/l时可以做30次。

配制好的工作液请在当天内使用完

操作步骤

Nucleolus Bright染色

1. 将细胞接种于培养皿或腔室载玻片中，并在37 °C，5% CO₂培养箱中过夜培养。
2. 去除培养基，加入4%多聚甲醛 (PFA)/PBS溶液，在室温下培养5 min或加入冷甲醇并在室温下培养1 min以固定细胞。
3. 去除上清液，用PBS洗涤细胞3次。
4. 加入1% Triton X-100/PBS溶液，在室温下培养20 min。
5. 去除上清液，用PBS洗涤细胞3次。
6. 加入制备好的Nucleolus Bright工作液，在室温下培养5 min。
7. 用荧光显微镜观察细胞。

一. Nucleolus Bright染色HeLa细胞的核仁

1. 将HeLa细胞接种在 μ -Slide 8孔板中，并在37℃，5% CO₂培养箱中过夜培养。
2. 去除培养基，加入4% PFA/PBS溶液，在室温下培养5 min或加入冷甲醇并在室温下培养1 min以固定细胞。
3. 去除上清液，用PBS洗涤细胞3次。
4. 加入1% Triton X-100/PBS溶液并在室温下培养20 min。
5. 去除上清液，用PBS洗涤细胞3次。
6. 加入200 μ l Nucleolus Bright工作液和DAPI的混合液，并在室温下培养5 min。
7. 用荧光显微镜观察。

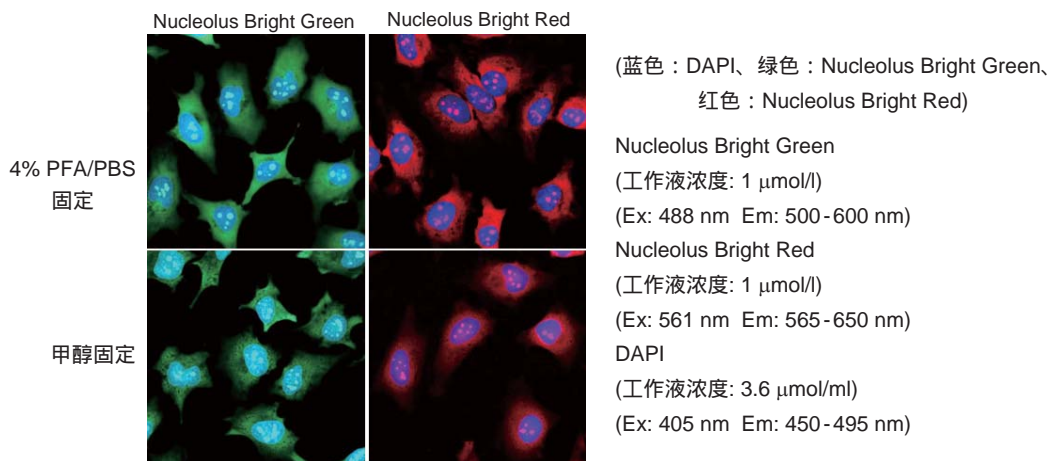


图3. HeLa细胞核仁染色图

二. 用Nucleolus Bright检测细胞衰老造成的核仁形态变化

1. 将传代次数分别为3代和18代的WI-38细胞悬液 (5 \times 10⁴个细胞/ml，含有10%胎牛血清，1%青霉素-链霉素的MEM培养基) 接种于 μ -Slide 8孔板中，并在37℃，5% CO₂培养箱中过夜培养。
2. 去除培养基，加入4% PFA/PBS溶液，在室温下培养5 min以固定细胞。
3. 去除上清液，用PBS洗涤细胞3次。
4. 加入1% Triton X-100/PBS溶液并在室温下培养20 min。
5. 去除上清液，用PBS洗涤细胞3次。
6. 加入200 μ l Nucleolus Bright工作液和DAPI的混合液，在室温下培养5 min。
7. 用荧光显微镜观察。

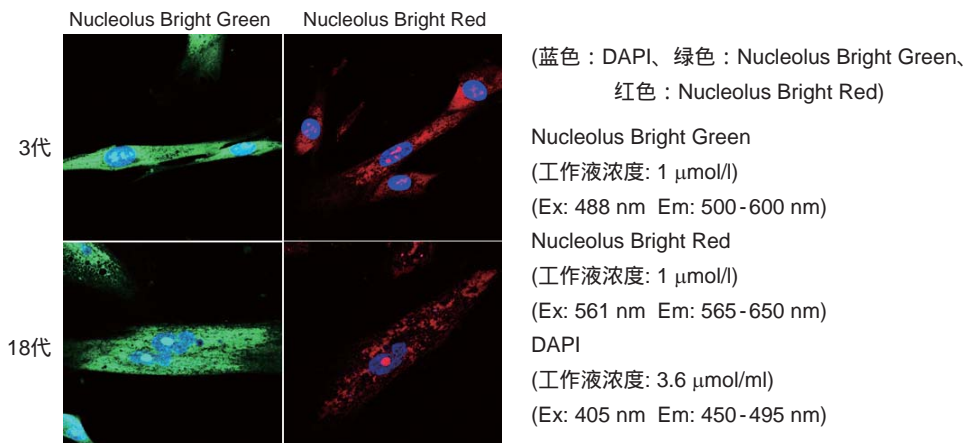


图4. WI-38细胞衰老过程中核仁的变化

参考文献

1. Greenberg, R. A. *et al.*, *Cell Reports*, **2015**, *13*, 251-259.
2. Kimura, K. *et al.*, *Scientific Reports*, **2015**, *5*, 8903.
3. Hiscox, J. A. *et al.*, *Cellular Microbiology*, **2006**, *8*, 1147-1157.
4. Nakao, M. *et al.*, *Cell Reports*, **2017**, *18*, 2148-2161.
5. Antebi, A. *et al.*, *Trends in Cell Biology*, **2018**, *28*(8), 662-672.

DOJINDO 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>

E-mail: info@dojindo.cn

上海

北京

上海市零陵路899号飞洲国际广场27楼J座

北京市朝阳区德外马甸裕民路12号元辰鑫大厦E1-210室

电话：400-823-9388

电话：010-8225-1765

2018年9月