

尼罗红脂肪荧光染色液 (500X)

C0009

中文名: 尼罗红/尼尔红

英文名: Nile Red / 9-(diethylamino)benzo[a]phenoxazin-5(5H)-one

CAS 号: 7385-67-3

分子式: C₂₀H₁₈N₂O₂

分子量: 318.37

规格: 0.2ml (500X)

储存: -20° C 避光保存, 一年有效

性质: 尼罗红不溶于水, 可溶于多种有机溶剂并发出荧光, 对甘油三酯, 胆固醇脂具有高亲和力, 在疏水环境中是最理想的脂质荧光染料; 尼罗红也可以和磷脂结合, 使细胞膜着色; 也可染色其它疏水分子如疏水蛋白等。

特点:

- 1、尼罗红与脂滴结合后, 用不同波长激发光激发, 可发出不同颜色的荧光, 便于观察;
- 2、尼罗红染色后可直接观察, 不必洗涤, 极大简化了染色过程;
- 3、有效避免了某些以醇为溶剂的染料在脂滴染色过程中导致的脂滴溶解融合、脂滴形态破坏等问题。

用途: 尼罗红作为最理想的染脂荧光染料主要用于显示组织器官的脂肪变性和类脂质的异常沉着、以及干细胞向脂肪细胞定向分化的研究。

操作步骤 (供参考):

样本处理:

1. 冷冻切片:
 - (1) 4%组织细胞固定液固定 10min。
 - (2) 蒸馏水洗 3 次, 每次 3min。
2. 培养细胞固定:
 - (1) 4%组织细胞固定液固定 10min。
 - (2) 蒸馏水洗 3 次, 每次 3min。
3. 活细胞: 用无血清和白蛋白的培养基洗涤细胞, 除去血清和白蛋白。

染色步骤:

1. 尼罗红染色工作液准备: 临用前, 将尼罗红脂肪荧光染色液 (500X) 于离心机 1200rpm 离心 2min, 根据需要吸取适量染色液, 用 PBS 缓冲液或无血清和白蛋白的培养基以 1:500 一次性稀释即为尼罗红染色工作液。
2. 固定细胞: 入尼罗红染色工作液, 染色 5-10 分钟, 蒸馏水洗涤一次, 立即观察。(选择恰当的染色时

间避免背景染色，一般情况下，染色时间>30 分钟，背景弥散强)

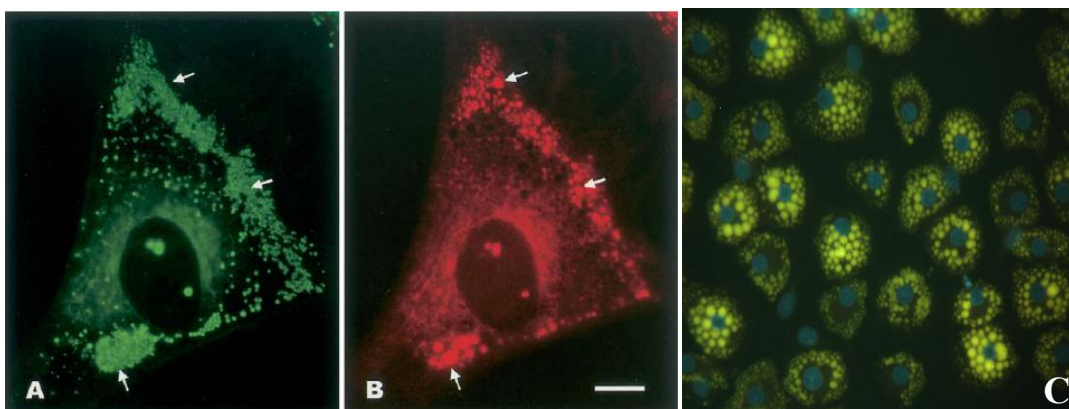
3. 活细胞：将尼罗红脂肪荧光染色液（500X）直接加入无血清培养液中（建议稀释比例 1:500），染色 5-10 分钟，收集细胞，用 PBS 洗涤一次，立即观察。

波长参考：

激发光波峰（滤光片）	名称	最佳波峰
365nm（275-400）	黄色（图 C）	
435nm（325-500）	绿色/黄色（图 A）	492-577
492-577nm	红色（图 B）	622-780nm
488nm（450-500）	金黄色荧光	528nm

染色结果：

- （1）用 365nm 波长激发，细胞核为蓝色，脂滴为黄色（图 C）
- （2）用 492-577nm 波长激发，细胞呈红色，且无变形（图 B）
- （3）用 435nm 波长激发，细胞呈绿色，分辨率高（图 A）



说明：

1. 尼罗红母液需要在-20℃密闭避光保存。
2. 首次使用试剂时建议先取 1-2 个样品做预实验，选择恰当的染色时间避免背景染色（如果背景过强，可提高稀释度）。一般情况下，染色时间>30 分钟，背景弥散强。
3. 甲醛固定对染色效果无影响，但可减缓尼罗红荧光衰减。4℃保存数天仍可见荧光。
4. 可以尼罗红和 hocheist 双染，建议比例 Hocheist 1: 200 染色 20 分钟。
5. 也有文献报道，激发光 515-560nm，也可发出红色荧光。
6. 尼罗红在大多数疏水溶剂中时，可采用 487-489nm 的激发波长和 530-550 nm 的发射波长。当其染磷脂时，激发光 549nm，发射光 628nm。通常中性脂滴在激发光波长为 515、530、560nm 时多显示金黄色，磷脂多的脂滴和亚细胞结构显橙色在波长大于>528 nm 时呈橙色，波长大于 630nm 时呈红色。