

高尔基体 (Golgi apparatus) 形态绿色荧光染色试剂盒

产品货号: R23513

产品规格: 20次

主要用途:

高尔基体(Golgi apparatus)形态绿色荧光染色试剂是一种旨在通过NBD标记的神经酰胺类荧光染料选择性地结合高尔基体膜,并呈现绿色,用于分析和观察高尔基体形态以及双重染色或重叠染色定位的方法。其适用于各种高尔基体(动物、人体等)的形态观察和定位标记。产品亚格无菌,即到即用,活体检测,分辨率高,操作简捷,性能稳定。

技术背景:

高尔基体 (Golgi apparatus或Golgi body), 又称为高尔基复合体 (Golgi complex), 是大多数真核细胞的细胞器组分, 由40至100扁平片层或称为小池 (cisternae) 堆叠成内膜系统 (endomembrane system), 分成正侧或内侧网络(cis-Golgi network)、近内中间网络(medial-Golgi)、内腔网络(endo-Golgi)、外侧或反侧网络等(trans-Golgi) 细胞内小管 (tubules)、囊泡 (vesicles) 和小池 (cisternae/sac) 相互连接的网络结构, 其主要功能在于由内侧网络接受内质网囊泡中的蛋白质和脂类等生物大分子, 处理 (修饰、分类) 和组装后, 由外侧网络转运分泌到目标位置。同时也是合成蛋白聚糖 (proteoglycan) 和碳水化合物的场所。高尔基体荧光探针N-7 (4-硝基苯2-恶-1,3-重氮) 6-氨基己酰鞘氨醇 (N-[7-(4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole)]-6-aminocaproyl sphingosine ; C6-NBD-Ceramide), 是一种荧光NBD (N-7 (4-硝基苯2-恶-1,3-重氮; N-[7-(4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole)]) 标记的神经酰胺类似物 (ceramide analog), 选择性地结合高尔基体膜。它可以对活细胞进行直接染色, 在激发波长466nm, 散发波长536nm可以清晰看到被染成绿色的高尔基体细胞器。

产品组成:

名称	规格	保存条件
清理液 (Reagent A)	120ml	2-8℃
固着液 (Reagent B)	20ml	2-8℃
预备液 (Reagent C)	2ml	2-8℃
染色液 (Reagent D)	20 μl	-20℃, 避光
强化液 (Reagent E)	10ml	-20℃

用户自备:

- 24孔细胞培养板: 用于贴壁细胞染色的容器
- 1.5毫升离心管: 用于细胞染色的容器
- 微型台式离心机: 用于沉淀细胞
- 4℃冰箱: 用于染色孵育
- 培养箱: 用于清洗孵育
- (共聚焦) 荧光显微镜: 用于细胞荧光分析

实验步骤:

实验开始前, 将-20℃冰箱里的试剂盒中的染色液(Reagent D)置入冰槽里融化, 然后分别移出 200 微升预备



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

液(Reagent C)和 2 微升染色液(Reagent D)到新的 1.5 毫升离心管, 标记为染色工作液, 置于冰上, 并放在暗室里备用。然后进行下列操作。

一、贴壁细胞标准染色

1. 准备 1 个细胞培养 24 孔板的待测细胞, 细胞铺满率达 70%。
(注意: 可以使用载玻片, 载玻片培养皿, 35mm 培养皿, 和其它培养孔板, 见注意事项 12。)
2. 小心抽去细胞培养液。
3. 小心沿着孔壁加入 1 毫升 4°C 预冷的清理液(Reagent A)到细胞培养孔, 覆盖培养孔表面。
4. 小心抽去清理液。
5. 小心加入 100 微升含有预备液(Reagent C)和染色液(Reagent D)的染色工作液到细胞培养孔, 覆盖培养孔表面。
6. 放进 4°C 冰箱里孵育 30 分钟。
7. 小心抽去染色工作液。
8. 小心沿着孔壁加入 1 毫升 4°C 预冷的清理液(Reagent A)到细胞培养孔, 覆盖培养孔表面。
9. 进 37°C 细胞培养箱里孵育 10 分钟。
10. 小心抽去清理液。
11. 重复实验步骤 8 至 10 二次。
12. 小心沿着孔壁加入 500 微升 4°C 预冷的清理液(Reagent A)到细胞培养孔, 覆盖培养孔表面。
13. 即刻在倒置荧光显微镜下进行观察: 激发波长 466nm, 散发波长 536nm(高尔基体呈现绿色)。

二、悬浮细胞或脱离细胞染色

1. 将悬浮细胞或脱离细胞(1×10^6 细胞)移入到 1.5 毫升离心管。
2. 放进微型台式离心机离心 1 分钟, 速度为 300g(或 2000RPM, 例如 eppendorf5415)。
3. 小心抽去上清液。
4. 加入 500 微升 4°C 预冷的清理液(Reagent A), 混匀细胞颗粒群。
5. 放进微型台式离心机离心 1 分钟, 速度为 300g(或 2000RPM, 例如 eppendorf5415)。
6. 小心抽去上清液。
7. 加入 100 微升含有预备液(Reagent C)和染色液(Reagent D)的染色工作液, 混匀细胞颗粒群。
8. 放进 4°C 冰箱里孵育 30 分钟。
9. 放进微型台式离心机离心 1 分钟, 速度为 300g(或 2000RPM, 例如 eppendorf5415)。
10. 小心抽去上清液。
11. 加入 500 微升 4°C 预冷的清理液(Reagent A), 混匀细胞颗粒群。
12. 放进 37°C 细胞培养箱里孵育 10 分钟。
13. 放进微型台式离心机离心 1 分钟, 速度为 300g(或 2000RPM, 例如 eppendorf5415)。
14. 小心抽去上清液。
15. 重复实验步骤 11 至 14 二次。
16. 加入 100 微升清理液(Reagent A), 混匀细胞颗粒群。
17. 移出 5 微升到载玻片上, 放上盖玻片。
18. (选择步骤)如果需要双重染色, 移出 3.5 微升染色细胞到载玻片上。
19. (选择步骤)加入 1 微升用户需测的第二染料, 放上盖玻片。
20. (选择步骤)放进 37°C 细胞培养箱里孵育 10 分钟。
21. 即刻在(共聚焦)荧光显微镜下进行观察: 激发波长 466nm, 散发波长 536nm(高尔基体呈现绿色)。

三、细胞双重染色

1. 准备 1 个载玻片培养皿的待测细胞。
2. 小心抽去细胞培养液。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- 小心加上 500 微升 4°C 预冷的清理液(Reagent A)，覆盖样品表面。
- 小心抽去清理液。
- 小心加上 500 微升固着液(Reagent B)，覆盖样品表面。
- 室温下孵育 10 分钟。
- 小心抽去固着液。
- 小心加上 500 微升 4°C 预冷的清理液(Reagent A)，覆盖样品表面。
- 小心抽去清理液。
- 重复实验步骤 8 至 9 二次。
(注意：由此步骤开始，用户可以进行抗体荧光染色或膜不通透性荧光染料的通透和标记)
- 小心加上 100 微升含有预备液(Reagent C)和染色液(Reagent D)的染色工作液，覆盖样品表面。
- 放进 4°C 冰箱里孵育 30 分钟。
- 小心抽去染色工作液。
- 小心加上 500 微升 4°C 预冷的清理液(Reagent A)，覆盖样品表面。
- 放进 37°C 细胞培养箱里孵育 10 分钟。
- 小心抽去清理液。
- 重复实验步骤 14 至 16 二次。
- 小心加上 500 微升 4°C 预冷的强化液(Reagent D)，覆盖样品表面。
- 即刻在倒置荧光显微镜下进行观察：激发波长 466nm，散发波长 536nm(高尔基体呈现绿色)。

四、细胞固定染色

- 准备 1 个细胞培养 24 孔板的待测细胞，细胞铺满率达 70%。
- 注意：可以使用载玻片，载玻片培养皿，35mm 培养皿，和其它培养孔板，见注意事项 12)。
- 小心抽去细胞培养液。
- 小心沿着孔壁加入 1 毫升 4°C 预冷的清理液(Reagent A)到细胞培养孔，覆盖培养孔表面。
- 小心抽去清理液。
- 小心沿着孔壁加入 1 毫升固着液(Reagent B)到细胞培养孔，覆盖培养孔表面。
- 室温下孵育 10 分钟。
- 小心抽去固着液。
- 小心沿着孔壁加入 1 毫升 4°C 预冷的清理液(Reagent A)到细胞培养孔，覆盖培养孔表面。
- 小心抽去清理液。
- 重复实验步骤 9 至 10 二次。
- 小心加上 100 微升含有预备液(Reagent C)和染色液(Reagent D)的染色工作液到细胞培养孔，覆盖培养孔表面
- 放进 4°C 冰箱里孵育 30 分钟。
- 小心抽去染色工作液。
- 小心沿着孔壁加入 1 毫升 4°C 预冷的清理液(Reagent A)到细胞培养孔，覆盖培养孔表面。
- 放进 37°C 细胞培养箱里孵育 10 分钟。
- 小心抽去清理液。
- 重复实验步骤 15 至 17 二次。
- 小心沿着孔壁加入 500 微升 4°C 预冷的强化液(Reagent D)，覆盖样品表面。
- 即刻在倒置荧光显微镜下进行观察：激发波长 466nm，散发波长 536nm(高尔基体呈现绿色)。

五、切片染色

- 准备 1 个待测的切片样品。
- 小心加上 500 微升 4°C 预冷的清理液(Reagent A)，覆盖切片表面。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

3. 小心移去切片上的清理液(Reagent A)。
4. 小心加入 500 微升固着液(Reagent B)，覆盖切片表面。
5. 室温下孵育 10 分钟。
6. 小心移去切片上的固着液(Reagent B)。
7. 小心加上 500 微升 4℃预冷的清理液(Reagent A)，覆盖切片表面。
8. 小心移去切片上的清理液(Reagent A)。
9. 重复实验步骤 7 至 8 二次。
10. 小心加上 100 微升含有预备液(Reagent C)和染色液(Reagent D)的染色工作液，覆盖切片表面。
11. 放进 4℃冰箱里孵育 30 分钟。
12. 小心移去切片上的染色工作液。
13. 小心加上 500 微升 4℃预冷的清理液(Reagent A)，覆盖切片表面。
14. 放进 37℃细胞培养箱里孵育 10 分钟。
15. 小心抽去清理液。
16. 重复实验步骤 13 至 15 二次。
17. 小心加上 500 微升 4℃预冷的强化液(Reagent D)，覆盖切片表面。
18. 盖上盖玻片。
19. 即刻在荧光显微镜下进行观察：激发波长 466nm，散发波长 536nm(高尔基体呈现绿色)。

注意事项：

1. 本产品为 20 次操作。
2. 操作时，须戴手套。
3. 孵育时，须避免光照。
4. 剩余的染色工作液可放进-20℃储存备用。
5. 本产品适合活体染色和固定染色，染色剂不易洗掉，染色持久。
6. 根据不同细胞类型，可以调整染色工作液的使用剂量。
7. 建议细胞染色完成后，即刻进行荧光检测分析。
8. 细胞内胆固醇缺陷，其高尔基体染色荧光信号微弱。
9. 本产品适合各种规格的培养细胞；载玻片，载玻片培养皿，35mm 培养皿，和各种培养孔板，须相应调整处理液：

操作容器	建议操作体系
载玻片	100 微升
载玻片培养皿	1 毫升
35mm 培养皿	1 毫升
96 孔培养板	100 微升
48 孔培养板	200 微升
24 孔培养板	500 微升
12 孔培养板	1 毫升
6 孔培养板	2 毫升
25cm ² 细胞培养瓶	3 毫升

10. 如果需要高强度高尔基体染色，建议使用高尔基体形态红色荧光染色试剂盒。
11. 本公司提供系列高尔基体分析试剂产品。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com