Tel: 400-968-6088 Fax: 010-56371281

Http://www.solarbio.com

ER-Tracker Blue-White DPX 内质网蓝色荧光探针(活细胞)

货号: E2380

规格: 50ul (1mM)

保存: -20℃避光保存, 1年有效期。避免反复冻融。

产品说明:

ER-Tracker 探针是一系列具有细胞膜透过性,对活细胞内质网具有高度选择性的探针,不像传统的 DiOC6(3),该系列探针几乎不对线粒体着色,且在较低浓度即可实现对内质网的染色,且对细胞几乎无毒性。使用以下提供的优化步骤对活细胞染色后用醛固定,可以部分保留活细胞的染色特征。

本品为 ER-Tracker Blue-White DPX, Ex= 374 nm, Em= 430-640 nm, 蓝色荧光, 属于 DapoxylTM (DPX) 家族成员之一。 DPX 系列染料均具有长发射波长、高吸光系数、高量子产量等特点。但这些染料具有环境敏感性,会随之出现极性增强、最大荧光波长偏移到更高波长处、量子产量下降等现象。

本品为溶于 DMSO 1mM ER-Tracker Blue-White DPX 储存液,推荐工作浓度为 100 nM-1 μM。 产品性质:

分子式 (Formula) C₂₆H₂₁F₅N₄O₄S
分子量 (Molecular Weight) 580.53
外观 (Appearance) Yellow Solution
Ex/Em 374/430-640 nm
波片 (Filter) DAPI or UV longpass
结构式 (Structure)

使用说明:

1.工作液的配制

将 1 mM ER-Tracker Blue-White DPX 储存液按照实验要求稀释至工作浓度,推荐工作浓度 $100 \text{ nM-}1\mu\text{M}$ 。建议在不影响实验结果的前提下尽量使用较低浓度探针,以避免由于浓度过高染色导致的假象:

【注】1) 使用前将 ER-Tracker Blue-White DPX 回温至室温,并简短离心使该 DMSO 溶液至管底。

2)使用含 Ca2+、Mg2+ Hank's 平衡盐溶液(HBSS/Ca/Mg)稀释该探针进行染色,可得到最佳实验结果。

2.染色

2.1 对于贴壁细胞

对于贴壁细胞,吸除培养皿中培养基,用 HBSS 清洗细胞,加入预热的染料工作液于 37℃孵育细胞 15-30 min。吸除染色液,加入不含探针的新鲜培养液,并在荧光显微镜下观察细胞。

【注】1)由于 ER-Tracker Blue-White DPX 探针具有较高光敏感性,会产生波动较大的发射

吸收峰值,使用长通 DAPI 滤光片效果最理想。

- 2) 操作过程中需尽量避光。
- 3)利用新鲜培养基替换上述染色液并在荧光显微镜(含合适滤片)下观察。若染色不够充分, 建议增加染料浓度或延长染色时间。

2.2 对于悬浮细胞

- 1) 离心, 吸除上清。
- 2) 利用 37℃预热的探针工作液重悬细胞,于生长状态下孵育 30 min~2 h(具体时间需根据细胞类型而定)。
 - 3) 离心, 吸除染色液, 加入新鲜培养液重悬细胞。
 - 4) 置于荧光镜下观察。若染色不够充分,建议增加染料浓度或加长染色时间。

【注】:对于悬浮细胞,也可将细胞贴附于经 BD Cell-Tak 处理过的盖玻片上,然后使用类似于贴壁细胞的方法进行染色。

- 3. 细胞固定及透化处理
- 3.1 固定细胞: 用 4%甲醛于 37℃固定细胞 10-20 min。
- 【注】1)已染色细胞用醛固定后,仅部分 ER-Tracker Blue-White DPX 留在细胞内,荧光信号会有部分衰减。
- 2) ER-Tracker Green 染色的细胞不能用 Triton X-100 通透, Triton X-100 通透处理会导致 ER-Tracker Green 的荧光染色消失
- 3.2 清洗观察细胞:细胞固定后,可用合适缓冲液进行清洗,每次 5 min,共 2 次。镜检即可。

注意事项:

- 1、ER-Tracker Blue-White DPX 在 4℃、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管管底、管壁或管盖内,可以 20-25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。对于微量的液体,每次使用前先离心数秒钟,使液体充分沉降到管底。
- 2、荧光染料均存在淬灭问题,请尽量注意避光,以减缓荧光淬灭。
- 3、需自备盖玻片和载玻片。
- 4、为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。