

YO-PRO-1 染色液

产品介绍:

YO-PRO-1 染色液 (YO-PRO-1 Staining Solution) 是一种快速、便捷的用于 3D 培养的细胞球或类器官等凋亡或坏死细胞的细胞核染色的溶液。仅需染色 10 分钟就可在荧光显微镜下观察到凋亡或坏死细胞中非常明亮的细胞核绿色荧光染色。

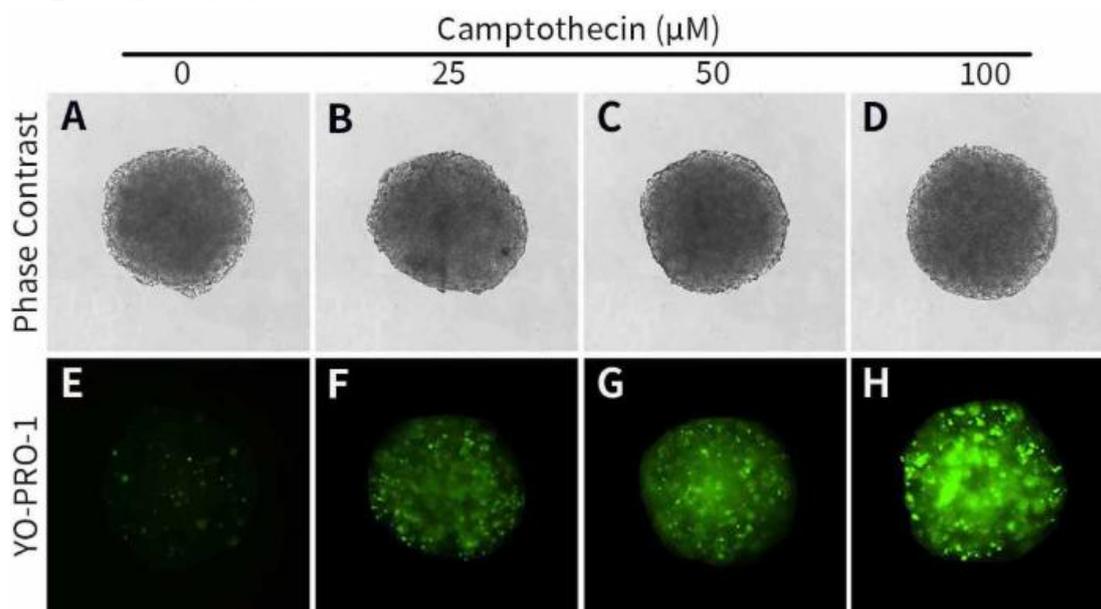
YO-PRO-1, 又名恶唑黄 (Oxazole yellow), 简称 YP1, 是一种对正常动物细胞膜没有通透性而对于凋亡细胞的细胞膜有通透性的 DNA 绿色荧光染料, 常用于细胞凋亡与坏死的检测。YO-PRO-1 是一种非细胞膜通透性的并对 DNA 具有高亲和力的羧花青单体绿色荧光染料, 在没有与 DNA 结合的时候基本上没有荧光, 而与 DNA 结合后可以发出明亮的绿色荧光。在细胞凋亡发生时, 细胞膜通透性发生改变, 此时 YO-PRO-1 可以进入细胞内与 DNA 结合, 发出明亮的绿色荧光, 因此常使用本荧光染料用于分析和鉴定凋亡细胞。需要注意的是 YO-PRO-1 也能染色细胞膜缺乏完整性的坏死细胞, 因此需要和对坏死细胞特异性荧光染色的 PI 进行双染才能有效判定细胞凋亡。

YO-PRO-1 的分子式为 C₂₄H₂₉I₂N₃O, 分子量为 629.32, CAS 号为 152068-09-2。YO-PRO-1 结合 DNA 后的最大激发光波长为 491nm, 最大发射波长为 509nm。

YO-PRO-1 作为一种细胞凋亡检测的荧光探针, 可以应用于大多数的哺乳动物细胞, 包括贴壁细胞和悬浮细胞, 与传统的 Annexin V-FITC 检测方法相比, 检测准确性和灵敏度相当。YO-PRO-1 检测的是细胞凋亡时细胞膜通透性的改变, 而 Annexin V-FITC 检测的是细胞凋亡时细胞膜上的磷脂酰丝氨酸从细胞膜的内膜翻转至外膜。

本产品适用范围广。本产品可用于常规方法培养出的 3D 细胞球或类器官, 包括超低吸附细胞培养板、基质胶或 Matrigel 包被的平板、琼脂糖包被的平板、细胞悬滴培养板等。

本产品使用便捷, 整个检测过程仅需约 10-30 分钟即可完成。3D 细胞球经凋亡诱导等处理后, 仅需加入本产品避光孵育 10 分钟即可进行荧光检测。本产品对 3D 培养的 HCT-116 细胞的染色效果参考图 1。



使用说明：

本步骤以 96 孔板，每孔接种 100 μ l 细胞为例，如使用其它类型的多孔板，各试剂使用量请按照相应比例进行换算。

1.3D 细胞的准备。

在 96 孔 3D 培养板中每孔接种 100 μ l 细胞，细胞的接种量根据具体的实验方案，例如培养天数、需要的 3D 细胞球状体的大小等确定，按照 3D 细胞培养方案培养细胞，并按照实验设计进行一定的处理。96 孔 3D 培养板推荐使用 3D 细胞培养板包被液、3D 细胞培养包被试剂盒(U 形底 96 孔板)包被的 U 形底 96 孔板，或直接使用超低吸附 96 孔板、超低吸附黑色透明底 96 孔板等。

注：为达到最佳的使用效果，具体的细胞球培养时间、药物等干预时间可以根据细胞种类、具体的实验需求等进行调整。例如，对于 HCT-116 细胞，通常接种培养 48 小时形成较为紧实的细胞球后进行干预和染色效果较好。

2.3D 细胞 YO-PRO-1 染色。

a.小心去除原有细胞培养液。

注：3D 细胞球通常位于在培养板或培养皿等培养器皿的底部，培养板在对着光线时能看到孔内针尖大小的乳白色细胞球，吸除孔内液体时须尽量避开细胞球以免将细胞球吸走。可以根据孔内液体的体积将移液器调至合适的量程，例如需要吸除的液体体积为 100 μ l，将 200 微升移液器的量程调整到 50-70 微升，避开细胞球从液体边缘缓慢、分次吸除。孔内加入液体时，沿着孔壁小心、缓慢加入，避免破坏或吹散 3D 细胞球。

b.每孔加入 100 μ l YO-PRO-1 染色液，在适宜于细胞培养的温度避光孵育 10 分钟。

注：为达到最佳的染色效果，具体染色时间可以根据细胞种类、培养天数、细胞球状大小等进行调整。

3.荧光照片拍摄。

染色结束后，可以无须洗涤，即可在荧光显微镜下观察。染色结束后，加入适量的 PBS 小心洗涤细胞 1-2 次，染色效果更佳。

参考文献：

- 1.Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajczkowska M, Teresiak A, et al. Arch Med Sci. 2018. 14(4):910-919.
- 2.Riedl A, Schleder M, Pudenko K, Stadler M, Walter S, et al. J Cell Sci. 2017. 130(1):203-218.
- 3.Hoarau-Véchet J, Rafii A, Touboul C, Pasquier J. Int J Mol Sci. 2018. 19(1):181.
- 4.Ravi M, Paramesh V, Kaviya SR, Anuradha E, Solomon FD. J Cell Physiol. 2015. 230(1):16-26.
- 5.Antoni D, Burckel H, Josset E, Noel G. Int J Mol Sci. 2015. 16(3):5517-27.