



NBD C₆-Ceramide

——高尔基复合体荧光探针

产品货号	包装规格
C049	1 mg

储存条件：-20℃，避光保存。

激发/发射波长：466/536 nm

产品说明书

安迪福诺生物科技（武汉）有限公司

ABP Biosciences Inc

武汉市东湖新技术开发区高新大道666号

光谷生物城生物创新园 C2-4 栋 5 楼

电话：400-0667-718

邮箱：sales@abpbio.cn

网址：www.abpbio.com (英文)

www.abpbio.com.cn (中文)

产品介绍

NBD C₆-Ceramide (NBD C₆-神经酰胺) 可以用来研究神经鞘脂类的运输与代谢机制, 也可以用来作为活细胞或经过固定的细胞样品内高尔基体的选择性染料。

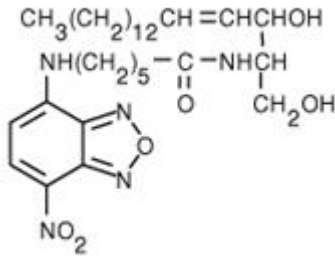
NBD C₆-Ceramide 是目前应用较广泛的选择性染色高尔基复合体的探针。NBD C₆-Ceramide 在水溶液中荧光信号非常微弱, 但是在非质子溶剂或其他非极性溶液中荧光信号增强, 最大激发、发射波长可达 466/536 nm。

产品信息

分子式: C₃₀H₄₉N₅O₆

分子量: 575.75

CAS 号: 86701-10-2



注意事项

- 为避免反复冻融, 建议适当分装。
- 对于微量的液体, 每次使用前请先高速离心数秒, 使液体充分沉降到管底。
- 荧光染料不可避免的存在淬灭问题, 请存放及操作时尽量注意避光, 以减缓荧光的淬灭。为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验步骤

制备 NBD C₆-Ceramide-BSA 复合物

对于活细胞或固定细胞的染色, 使用添加 BSA 的 NBD C₆-Ceramide-BSA 复合物能够得到较好的染色效果。NBD C₆-Ceramide-BSA 复合物制备方法如下:

- 1.1 以氯仿: 乙醇 (体积比 19:1) 为溶剂配制 1 mM NBD C₆-Ceramide 溶液;
- 1.2 吸取 50 μl NBD C₆-Ceramide 溶液于小玻璃试管中, 保持干燥, 通入氮气流, 然后在真空状态保持至少 1 小时, 以 200 μl 无水乙醇重溶。
- 1.3 量取 10 ml 无血清的平衡盐溶液 (如 HBSS 或 HEPES, pH 7.4) 到 50 ml 塑料离心管中, 加入 3.4 mg (使其浓度为 0.34 mg/ml) 的脱脂 BSA。

- 1.4 将含有 10 ml BSA 溶液的试管置于漩涡混合器上混匀，加入 200 μ l NBD C₆-Ceramide 溶液，漩涡震荡混匀，所得溶液（5 μ M NBD C₆-Ceramide+5 μ M BSA）保存于-20°C。

活细胞高尔基复合体染色

- 2.1 用合适的缓冲液（如 HBSS/HEPES）冲洗盖玻片上的细胞；
- 2.2 加入 5 μ M NBD C₆-Ceramide+5 μ M BSA 溶液于 4°C 孵育细胞 30 分钟；
- 2.3 用预冷的新鲜培养基反复冲洗细胞数次，37°C 孵育细胞 30 分钟；
- 2.4 用新鲜培养基冲洗细胞，荧光显微镜镜检。

经过固定处理的细胞高尔基复合体染色

注意：染色条件同活细胞样品，但应避免使用含甲醇/丙酮类的固定剂。

- 3.1 用 HBSS/HEPES 缓冲液冲洗盖玻片上的细胞，用 0.5%戊二醛/10%蔗糖/100 mM 的 PIPES 缓冲液（pH 7.0）或者 2~4%多聚甲醛（溶于 PBS）溶液室温下固定 5~10 分钟；
- 3.2 用预冷的 HBSS/HEPES 反复冲洗细胞数次，加入 5 μ M NBD C₆-Ceramide+5 μ M BSA 溶液于 4°C 冰浴孵育 30 分钟；
- 3.3 用 HBSS/HEPES 冲洗细胞样品，以 10%的 FBS 或者 2 mg/ml 的 BSA 在室温下孵育 30~90 分钟，以加强高尔基体染色效果；
- 3.4 用新鲜的 HBSS/HEPES 将细胞样品冲洗干净，荧光显微镜镜检。