

产品说明书

26 版

基本信息

产品编号:	010006
产品名称:	油红 O

产品简介:

一种脂溶性重氮染料，最大吸收波长为 518 nm。Oil Red O 染色中性脂和胆固醇酯，但不染色生物膜。Oil Red O 在小鼠肝活检中可用于检测和定量肝脂肪变性。Oil Red O 染色可以有效地观察代谢疾病发生和进展时组织发生的根本变化。

体外研究:

Oil Red O (ORO) 染色脂质的完整实验步骤:

一、制备 ORO 储备液

1、在 250 mL 瓶中加入 500 mg ORO 粉末和 100 mL 100% 异丙醇，充分混合。

2、配制完成后，将溶液密封保存，避免光照。

二、制备 ORO 工作液

1、将 ORO 储存液用水稀释至 60%异丙醇（体积比为 3:2）。

2、使用前，用 0.2 μm 醋酸纤维素无菌注射器过滤器过滤工作液。

注：为获得最佳溶液质量，建议提前一天配制 ORO 工作液并混合过夜。若需当天使用，需将稀释后的溶液在摇床上混合至少 2 小时。摇动前用石蜡膜包裹离心管以防泄漏。

三、准备样品

1、在 20° C 条件下，将线虫培养于接种了 OP50 大肠杆菌（对数后期）的线虫生长培养基（NGM）上，直至目标发育阶段。

2、向培养皿中加入 1 mL PBST 溶液（含 0.01% Triton X-100），轻轻摇晃使线虫脱离培养基。倾斜培养皿并用 1 mL PBST 冲洗，将线虫悬液转移至 1.5 mL 离心管。

3、以 560 $\times$ g 离心 1 分钟，弃上清，保留沉淀。重复用 1 mL PBST 洗涤三次，最后弃上清仅保留 100 μL 。

4、向线虫沉淀中加入 600 μL 40% 异丙醇，室温下摇动孵育 3 分钟。

5、以 560 $\times$ g 离心 30 秒，弃上清仅保留 100 μL ，注意勿扰动线虫沉淀。

注：若进行高通量染色，需增加 PBST 体积。线虫在 PBST 中洗涤时间不得超过 15 分钟。若上清中仍有细菌，需额外洗涤。使用摇床或振荡器进行 40% 异丙醇孵育，确保样品充分混匀。

四、染色脂质体

1、向每份样品中加入 600 μL ORO 工作液，颠倒离心管三次以充分混合线虫与染色液。

2、室温下以 30 rpm 旋转孵育 2 小时。

3、以 560 $\times$ g 离心 1 分钟，弃上清仅保留 100 μL 。

4、用 600 μL PBST 重悬样品，以 30 rpm 旋转孵育 30 分钟以去除多余染色液。

5、以 560 $\times$ g 离心 1 分钟，弃上清仅保留 50 μL 。

6、为更好区分线虫的生殖细胞和肠道细胞核，可在每 1 mL ORO 工作液中加入 1 μL DAPI，染色 2 小时后制片成像。肠道细胞核较大，生殖腺可通过发育中的生殖细胞识别。

注：ORO 染色后，线虫可能黏附于离心管壁而无法形成明显沉淀。若发生此情况，可再次离心或静置至少 10 分钟使线虫沉降。



五、制片
1、将线虫沉淀重悬于剩余上清液中，充分混匀。
2、取 5 μL 线虫悬液滴于载玻片，小心盖上盖玻片以避免气泡。
3、用指甲油密封盖玻片边缘后进行成像。
注：固定和染色后的线虫可能僵硬，难以吸取。建议剪去移液器吸头尖端以扩大孔径。若无法立即成像，可将载玻片存放于 4° C 的离心管架中，最长 24 小时。
六、成像
1、使用具备彩色成像功能的显微镜相机拍摄 ORO 染色线虫。
2、用 5X 物镜拍摄以涵盖多个线虫视野，切换至 10X 物镜以观察单个线虫细节。
3、将图像以 TIF 格式导出以避免压缩导致数据丢失。
注：若使用 ORO+DAPI 染色，需切换至荧光成像模式。
七、结果分析
1、将图像导入 Image J。若文件格式不被识别，可通过插件菜单中的 Bio-Formats 功能读取。
2、在图像菜单的“堆栈（Stacks）”功能下，使用“Images-to-Stack”将多张图像合并为堆栈以便比较。
3、调整“亮度/对比度（Brightness/Contrast）”以增强脂滴可见性。
4、根据脂质在全身或特定组织的积累情况对图像进行分类。
5、为评估脂质定位并识别非特异性伪影，可在图像菜单的“颜色（Color）”中选择“Stack to RGB”，分别显示 RGB 通道信号。

使用方法（供参考）：

一：体外实验			
溶于苯、乙醇和丙酮。			
浓度 \ 质量 溶液体积	1mg	5mg	10mg
1 mM	2.4480 mL	12.2402 mL	24.4804 mL
5 mM	—	—	—
10 mM	—	—	—
储备液的保存方式：-80° C, 6 months; -20° C, 1 month (protect from light, stored under nitrogen)。			

注意事项：

1、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2、以上信息仅做参考交流之用。

储存： 室温

