

XF 棕榈酸酯氧化压力测试试剂盒：进阶实验



图 1.用于 XF 棕榈酸酯氧化压力测试试剂盒 (部件号 103693-100) 的高级分析设计

分析前 2 天 (第 1 天)

1. 对于贴壁细胞，在细胞培养生长培养基中以预定密度接种细胞
2. 使用 XF 底物氧化压力测试-高级分析模板在 Wave 中进行实验设计，并根据实验设计对模板进行必要的修改

分析前 1 天 (第 2 天)

1. 确保 XF 分析仪通电并热平衡至 37 °C (至少 5 小时)
2. 将传感器探针板置于无 CO₂ 培养箱的无菌水或蒸馏水中，在 37 °C 下水化过夜
3. 制备适当体积的底物限制生长培养基 (约 15 mL, 表 1)
4. 从细胞板中移除生长培养基，并将其替换为底物限制生长培养基 (96 孔板 100 μ L, 24 孔板 250 μ L); 孵育过夜

分析日 (第 3 天)

1. 完成传感器探针板水化过程：将水替换为 XF 校准液 (200 μ L/孔 XF96 或 500 μ L/孔 XF24) 并在 37 °C 无 CO₂ 下孵育 1 小时
2. 制备 75 mL 分析培养基：使用 XF 安捷伦底物补充 XF DMEM 或 XF RPMI (表 2)
3. 从细胞板中移除培养基，并将其替换为底物限制分析培养基：180 μ L (96 孔板)，500 μ L (24 孔板) (注：在分析之前添加棕榈酸酯和 BSA, 第 10 步)
4. 将细胞板置于无 CO₂ 的 37 °C 培养箱中孵育 60 分钟，或置于 Biotek 仪器中进行归一化处理

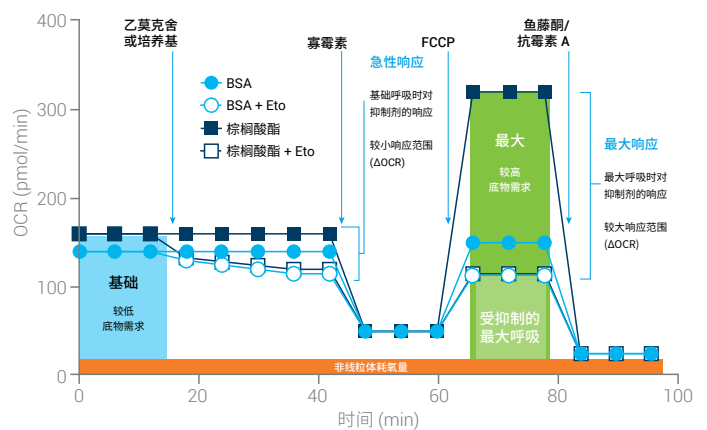


图 2. 高级分析输出

基础生长培养基	生长培养基补充剂	底物限制生长培养基的建议初始浓度
	葡萄糖	0.5 mmol/L
DMEM 或 RPMI, 不含葡萄糖、丙酮酸、谷氨酰胺或 GlutaMAX	谷氨酰胺或 GlutaMAX	1.0 mmol/L
	血清 (如 FBS)	1.0%
	XF 左旋肉碱	0.5 mmol/L

表 1. 底物限制生长培养基的建议初始组成*

* 最佳限制底物浓度和最佳孵育时间取决于细胞，应根据目标细胞类型进行经验判断

- 制备储备液：在分析培养基中重悬干燥化合物，并将其涡旋振荡约 1 分钟（表 3）
- 将储备液与适量的分析培养基混合，制备得到 10X 工作溶液（表 3）
- 将 10X 工作溶液转移至 4 个加药口中（表 3）。注：将加药口 A 中的分析培养基作为对照（即乙莫克舍）孔
- 打开 Wave 和设计的分析模板。准备好后单击 **Start Run**（开始运行）
- 传感器探针板校准完成后，从细胞板中移除培养基，并将其替换为底物限制分析培养基：130 μL （96 孔板），415 μL （24 孔板）
- 向相应的细胞板孔中加入棕榈酸酯-BSA 或 BSA 对照：XFe96 30 μL ，XFe24 85 μL

- 出现提示时，将加载的传感器探针板放入分析仪，并单击 **I'm Ready**（准备就绪）
- 校准完成后，Wave 将显示 **Load Cell Plate**（加载细胞板）。单击 **Open Tray**（打开托盘），然后将工具板替换为细胞板
- 确保取下细胞板的盖子，然后单击 **Load Cell Plate**（加载细胞板）开始分析
- 可选：使用 Biotek 仪器在分析后对细胞进行归一化处理

分析培养基组分	体积	最终浓度 (mmol/L)
Seahorse XF DMEM 或 RPMI 培养基, pH 7.4	75 mL	-
XF 葡萄糖 (1 mol/L)	150 μL	2.0
XF 左旋肉碱	75 μL	0.5

表 2. 底物限制分析培养基的建议初始组成。注意在分析之前添加棕榈酸酯-BSA 和 BSA，参见第 10 步

加药口	化合物	储备液		加入加药口的 10X 工作溶液		加入加药口的体积 (μL)	
		分析培养基体积 (μL)	储备液体积 (μL)	分析培养基体积 (μL)	XFe96/XFe24	最终孔浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	
A	乙莫克舍	700	500	1500	20/56	4.0	
B	寡霉素	420	300	2700	22/62	1.5	
C	FCCP (使用分析前确定的最佳浓度)	720	75	2925	25/69	0.25	
			150	2850	25/69	0.5	
			300	2700	25/69	1.0	
			600	2400	25/69	2	
D	鱼藤酮 + 抗霉素 A	540	300	2700	27/75	0.5	

表 3. 标准底物氧化压力测试：储备液和工作溶液

其他信息

XF 底物氧化压力测试试剂盒用户手册：

www.agilent.com/chem/subox-usermanual

安捷伦 XF 学习中心：

www.agilent.com/en/products/cell-analysis/how-to-run-an-assay

技术支持：

cellanalysis.support@agilent.com

仅限研究使用。不可用于诊断目的。

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2020
2020 年 1 月 28 日，中国出版
5994-1716ZHCN
DE.5922685185

订购信息

描述	部件号
XF 棕榈酸酯氧化压力测试试剂盒	103693-100
Seahorse XF DMEM 培养基, pH 7.4	103575-100
Seahorse XF RPMI 培养基, pH 7.4	103576-100
Seahorse XF 1.0 mol/L 葡萄糖	103577-100