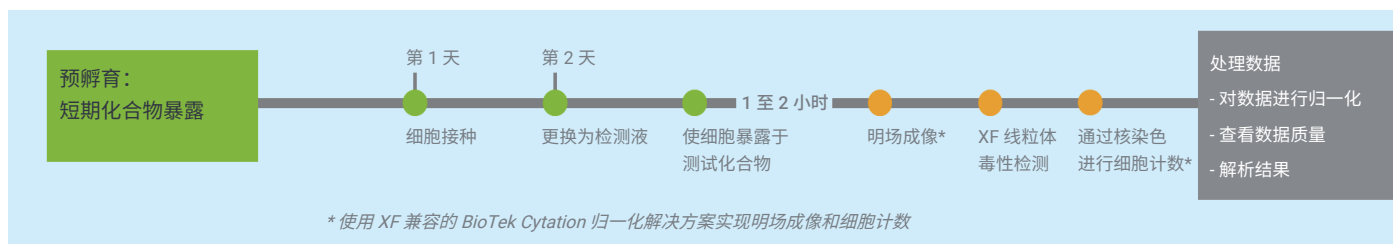


# 安捷伦 Seahorse XF 线粒体毒性测定试剂盒



## 第 1 天：实验前一天

1. 确保安捷伦 Seahorse XF Pro 分析仪通电并热平衡至 37 °C（至少 2 小时）
2. 按照 XF 线粒体毒性测定试剂盒用户指南中的详细说明，使用校准液水化探针板
3. 对于贴壁细胞，在生长培养基中将细胞以预定密度接种于安捷伦 Seahorse XF Pro M 培养板中，每孔 80  $\mu\text{L}$ 。将 80  $\mu\text{L}$  的培养基分配到每个背景孔中。无需在背景孔中接种细胞
4. 使用调至 250  $\mu\text{L}$  的 8 通道 P1000 移液器将孔周围的四个凹槽注满水。将板置于 37 °C CO<sub>2</sub> 培养箱中过夜，以使细胞附着
5. 创建或修改实验模板并将其上传到安捷伦 Seahorse XF Pro Controller

## 第 2 天：实验当天

1. 准备含 XF 补充剂的 100 mL 检测液（表 1）。预热至 37 °C
2. 用预热的检测液清洗细胞板两次。确保最终体积为 100  $\mu\text{L}$ /孔
3. 使用检测液以最终浓度的 2 倍配制测试化合物溶液

表 1. XF 线粒体毒性检测的标准检测液

检测液组分	体积 (mL)	最终浓度 (mmol/L)
XF DMEM 培养基, pH 7.4	97	-
XF 葡萄糖 (1 mol/L)	1.0	10
XF 丙酮酸钠 (100 mmol/L)	1.0	1
XF 谷氨酰胺 (200 mmol/L)	1.0	2

4. 如果测试化合物溶液含有 DMSO 或其他溶剂，配制 5 mL 含有相同浓度 DMSO 或其他溶剂的 XF 检测液。此为溶剂对照溶液
5. 在样品瓶中加入 400  $\mu\text{L}$  的检测液，配制 1.0  $\mu\text{mol/L}$  的鱼藤酮/抗霉素 A 溶液。涡旋溶解化合物。然后，将所有 400  $\mu\text{L}$  溶液转移到更大试管中，并添加 5 mL 检测液。此步骤应该制得总共 5400  $\mu\text{L}$  溶液
6. 根据实验模板中预设计的板布局，向每个孔中添加 100  $\mu\text{L}$  的测试化合物溶液
7. 将 100  $\mu\text{L}$  的鱼藤酮/抗霉素 A 溶液转移到第 12 列 (B12 至 G12) 中含有细胞的 8 个孔中
8. 将 100  $\mu\text{L}$  的溶剂对照溶液添加到第 1 列 (B1 到 G1) 中含细胞的 8 个孔以及 4 个角的背景孔中
9. 在分析之前，将细胞板置于无 CO<sub>2</sub> 培养箱中，在 37 °C 下孵育 45 至 60 分钟

10. 根据表 2 为试剂盒化合物配制储备液

表 2. 试剂盒化合物储备液配制

化合物	检测液添加量 (µL)	浓度 (µmol/L)
寡霉素	465	135
FCCP	720	100

11. 根据表 3 配制加药溶液并将其上样至加药口

表 3. 加药溶液配制和上样体积。每个孔的起始体积为 200 µL

加药溶液	储备液 (µL)	检测液 (µL)	加药口浓度		孔最终浓度 (µmol/L)	加药口和体积
			µmol/L	倍数		
寡霉素	300	2700	13.5	9x	1.5	加药口 A: 25 µL
FCCP	150	2850	5	10x	0.5	加药口 B: 25 µL
	300	2700	10	10x	1.0	
	450	2550	15	10x	1.5	
	600	2400	20	10x	2.0	

12. 在 XF Pro Controller 中打开实验模板。准备好后单击 **Start Run** (开始运行)

13. 校准完成后, 软件将显示 Load Cell Plate (加载细胞板)。单击 **Open Tray** (打开托盘), 然后将水化板替换为细胞板

14. 确保取下细胞板的盖子, 然后单击 **Load Cell Plate** (加载细胞板) 开始检测

15. **可选:** 使用 Agilent BioTek Cytation 检测仪在分析后对细胞进行归一化处理

16. 完成分析运行后, 将结果文件上传到 Seahorse Analytics 并使用 **XF Mito Tox Screening View** (XF 线粒体毒性筛查视图) 或 **XF Mito Tox Dose View** (XF 线粒体毒性剂量视图) 处理分析结果

## 其他信息

安捷伦 XF 学习中心

[www.agilent.com/en/products/cell-analysis/how-to-run-an-assay](http://www.agilent.com/en/products/cell-analysis/how-to-run-an-assay)

技术支持

[cellanalysis.support@agilent.com](mailto:cellanalysis.support@agilent.com)

## 订购信息

货号	产品描述	适用分析仪
103595-100	Seahorse XF 线粒体毒性测定试剂盒, 6 次分析	XF Pro 分析仪
<b>相关产品</b>		
103575-100	Seahorse XF DMEM 培养基, pH 7.4, 500 mL*	所有分析仪
103577-100	Seahorse XF 1.0 mol/L 葡萄糖溶液, 50 mL	所有分析仪
103578-100	Seahorse XF 100 mmol/L 丙酮酸钠溶液, 50 mL	所有分析仪
103579-100	Seahorse XF 200 mmol/L 谷氨酰胺溶液, 50 mL	所有分析仪
103775-100	Seahorse XF Pro M FluxPak, 18 次分析	XF Pro 分析仪
103777-100	Seahorse XF Pro M FluxPak Mini, 6 次分析	XF Pro 分析仪
103774-100	Seahorse XF Pro M 细胞培养板, 6 块板	XF Pro 分析仪

\* 此培养基也可以与本表所列的补充剂一起以套装形式购买 (货号 103680-100)

查找当地的安捷伦客户中心:

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价:

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

RA44671.6334143519

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, 2022  
2022 年 4 月 29 日, 中国出版  
5994-4808ZHCN

 **Agilent**  
Trusted Answers