

XF 底物氧化压力测试试剂盒：标准实验

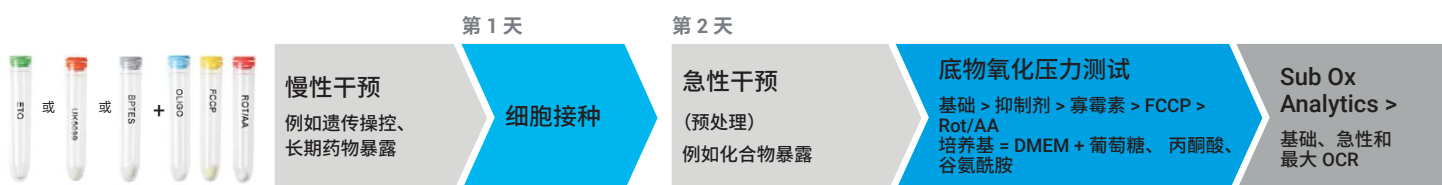


图 1. XF 长链脂肪酸氧化压力测试试剂盒 (部件号 103672-100)、XF 葡萄糖/丙酮酸氧化压力测试试剂盒 (部件号 103673-100) 和 XF 谷氨酰胺氧化压力测试试剂盒 (部件号 103674-100) 采用的标准分析设计

分析前 1 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. 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
4. 使用 XF 底物氧化压力测试-标准分析模板在 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

分析日

1. 完成传感器探针板水化过程: 将水替换为 XF 校准液 (200 μL/孔 XF96 或 500 μL/孔 XF24) 并在 37 °C 无 CO₂ 下孵育 1 小时
2. 制备 100 mL 分析培养基: 使用 XF 安捷伦底物补充 XF DMEM 或 XF RPMI (表 1)
3. 从细胞板中移除培养基, 并将其替换为分析培养基: 180 μL (96 孔板), 500 μL (24 孔板)
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
5. 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 2, 背页)
6. 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 2, 背页)

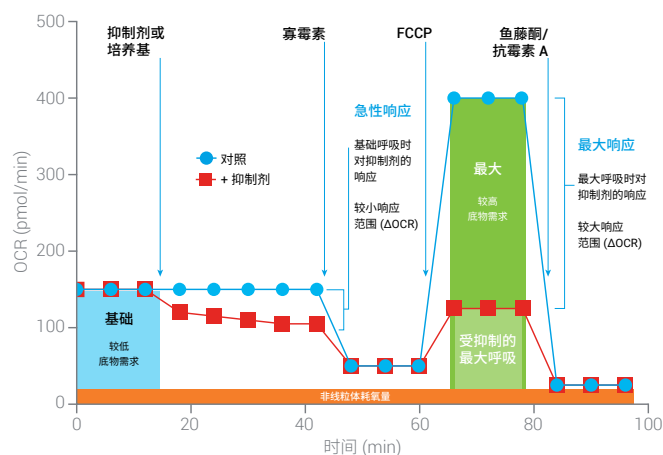


图 2. 标准分析输出

分析培养基组分	体积 (mL)	最终浓度 (mmol/L)
Seahorse XF DMEM 或 RPMI 培养基, pH 7.4	97	-
XF 葡萄糖 (1 mol/L)	1.0	10
XF 丙酮酸 (100 mmol/L)	1.0	1.0
XF 谷氨酰胺 (200 mmol/L)	1.0	2.0

表 1. 标准底物氧化压力测试分析培养基

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 (μmol/L)
A	乙莫克舍, 或	700	500	1500	20/56	4.0
	UK5099, 或	700	500	1500	20/56	2.0
	BPTES	700	500	1500	20/56	3.0
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 2. 标准底物氧化压力测试：储备液和工作溶液

- 将 10X 工作溶液转移至 4 个加药口中 (表 2)。注：将加药口 A 中的分析培养基作为对照 (即抑制剂) 孔
- 打开 Wave 和设计的分析模板。准备好后单击 **Start Run** (开始运行)
- 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

订购信息

描述	部件号
XF 长链脂肪酸氧化压力测试试剂盒	103672-100
XF 葡萄糖/丙酮酸氧化压力测试试剂盒	103673-100
XF 谷氨酰胺氧化压力测试试剂盒	103674-100
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
Seahorse XF 100 mmol/L 丙酮酸	103578-100
Seahorse XF 200 mmol/L 谷氨酰胺	103579-100

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。