رنگ Oil-Red-O

فقـط بـرای کـارهای تحقیقـاتی

شمـاره کاتالوگ: BI-1802

توصیـف محصـول

رنگ Oil-Red-O یک لیزوکروم (رنگ چربی) محلول در چربی است که حلالیت بسیار بیشتری در مواد لیپیدی نسبت به حلال های رنگی هیدروالکلی رایج دارد. این ماده برای رنگ آمیزی لیپیدها، اسیدهای چرب، تری گلیسریدها و کلسترول در نمونه های بافتی منجمد، برش های بافتی، و کشت های تک لایه آدیپوسیت بکار می رود. اگرچه عمق رنگ قرمز این ماده زیاد است اما ساختارهای سلولی در آن واضح می مانند. در اثر عبور نور قرمز و تهییج آن بواسطه داشتن خاصیت فلورسانس، سلول ها و برش های رنگ آمیزی شده قابل رویت می شوند. در کشت سلول، رنگ Oil red O رایج ترین رنگ برای دیدن و شمارش تمایز آدیپوژنیک سلول های بنیادی مزانشیمی در سیستم برون تنی است. قطرات روغن در آدیپوسیت های بالغ رنگ را گرفته و بصورت قرمز دیده می شوند.

ویژگی‌ها

- وزن مولکولی: ۴۰۸/۴۹
- فرمول مولکولی: C26H24N4O
- ظاهر: مایع قرمز
- حلالیت: محلول
- اندیکاتور pH: ۴/۶ (زرد) تا ۶ (قرمز)
- نگهداری: دمای ۳۰-۱۰ درجه سانتیگراد
- عمر مفید: ۴۸ ماه

محلول کاری رنگ Oil red O

۶ قسمت از ذخیره اصلی رنگ Oil red O (BI-1802) را با ۴ قسمت آب مقطر مخلوط کنید و بگذارید ۲۰ دقیقه در دمای اتاق بماند.

روش استفاده

۱. سلول های کشت شده را وارد پلیت کشت سلول کشت کرده و بر اساس پروتوکل، تیمار کنید.
۲. پلیت (۳۵ میلی متری) را از انکوباتور بیرون آورده و محیط را خارج کنید.
۳. مقدار ۲ میلی لیتر PBS برای شستشوی سلول‌ها اضافه و سپس بطور کامل آن را خارج کنید.
۴. مقدار ۲ میلی لیتر فرمالین ۱۰ درصد (دمای اتاق) اضافه کرده و برای۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.
۵. فرمالین را دور ریخته و ۲ میلی‌لیتر فرمالین تازه اضافه کرده و برای یک ساعت یا بیشتر انکوبه کنید (قبل از رنگ آمیزی می‌توان سلول‌ها را تا دو روز در فرمالین نگه داشت. در پارافیلم بپیچید و با یک فویل آلومینیومی بپوشانید تا سلول ها خشک نشوند).
۶. فرمالین را با پیپت بردارید.
۷. سلول ها را دو بار با ۲ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر شستشو دهید.
۸. سلول ها را با ۲ میلی لیتر ایزوپروپانول ۶۰ درصد برای ۵ دقیقه در دمای اتاق شستشو دهید.
۹. اجازه دهید سلول‌ها بطور کامل در دمای اتاق خشک شوند. در صورت امکان از دستگاه سشوار استفاده کنید.
۱۰. یک میلی لیتر از محلول کاری Oil Red O اضافه کرده و۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.
۱۱. رنگ Oil Red O را دور ریخته و بلافاصله با آب مقطر دو بار تقطیر بشویید. شستشو را ۴ بار تکرار کنید.

۱۲. برای بررسی با میکروسکوپ عکس بگیرید.

۱۳. تمام آب را بردارید و اجازه دهید خشک شود.

۱۴. با افزودن ایزوپروپانول ۱۰۰ درصد و انکوباسیون برای ۱۰ دقیقه با تکان دادن ملایم، رنگ Oil Red O را خارج کنید.

۱۵. چندین بار ایزوپروپانول را با Oil Red O پیپت کنید تا مطمئن شوید تمام رنگ Oil Red O در محلول قرار دارد.

۱۶. محلول را به یک تیوب ۱/۵ میلی لیتری منتقل کنید.

۱۷. با استفاده از ایزوپروپانول ۱۰۰ بعنوان بلانک، جذب نوری را در۵۰۰ نانومتر قرائت کنید.

منـابع

1. Gregory CA, Gunn WG, Peister A, Prockop DJ. (2004) “An Alizarin red-based assay of mineralization by adherent cells in culture: comparison with cetylpyridinium chloride extraction.” Analytical Biochem. 329: 77-84.

ارجـاعـات

1. Alizadeh, Effat, et al. "The effect of dimethyl sulfoxide on hepatic differentiation of mesenchymal stem cells." Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology 44.1 (2016): 157-164.
2. Alizadeh, Effat, et al. "Upregulation of MiR-122 via trichostatin a treatments in hepatocyte-like cells derived from mesenchymal stem cells." Chemical biology & drug design 87.2 (2016): 296-305.
3. Baharara, Javad, et al. "The osteogenic differentiation stimulating activity of Sea cucumber methanolic crude extraction on rat bone marrow mesenchymal stem cells." Iranian journal of basic medical sciences 17.8 (2014): 626.
4. Jalilzadeh-Tabrizi, Sepideh, et al. "A Biomimetic Emu Oil-Blended Electrospun Nanofibrous Mat for Maintaining Stemness of Adipose Tissue-Derived Stem Cells." Biopreservation and biobanking 16.2 (2018): 66-76.