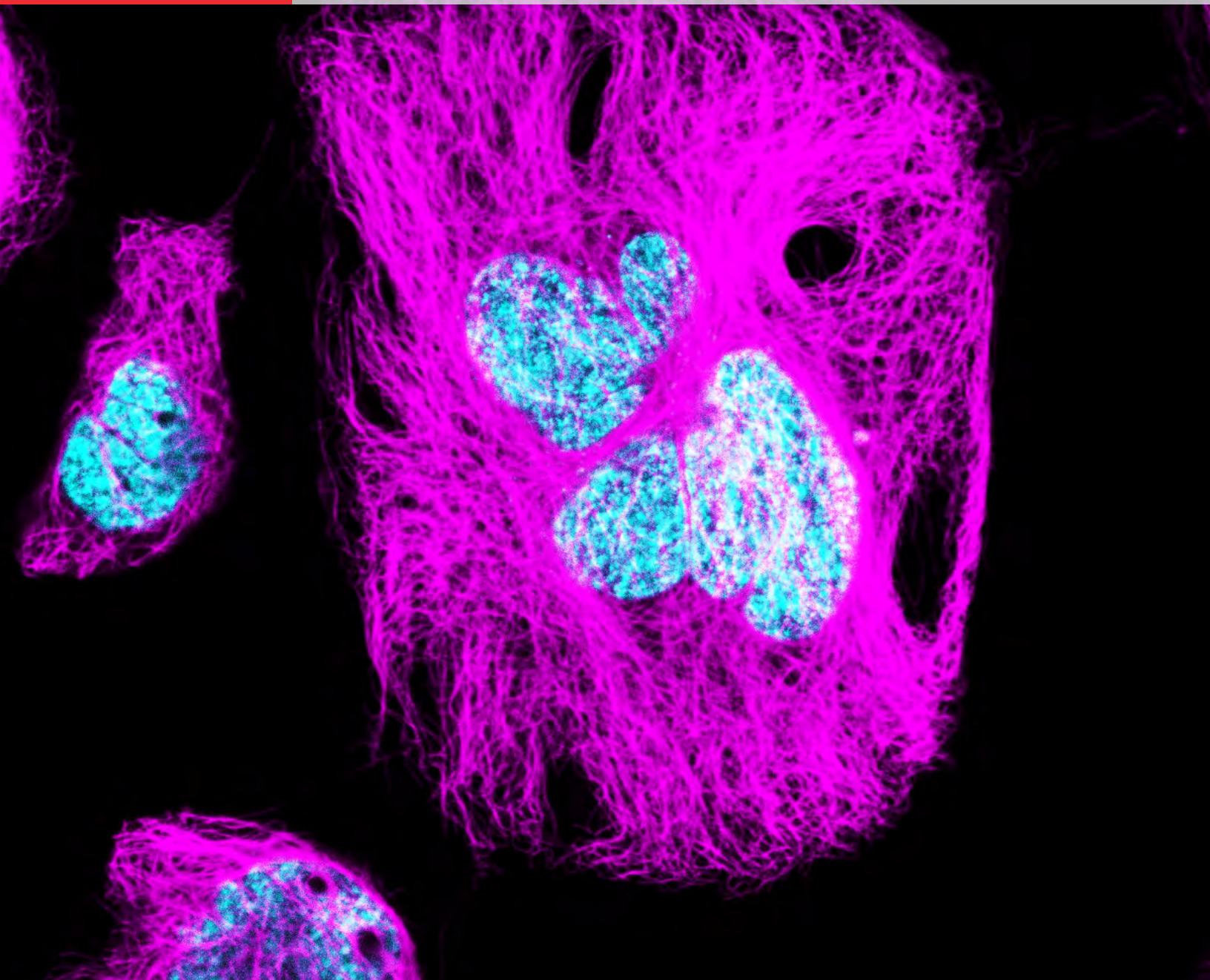




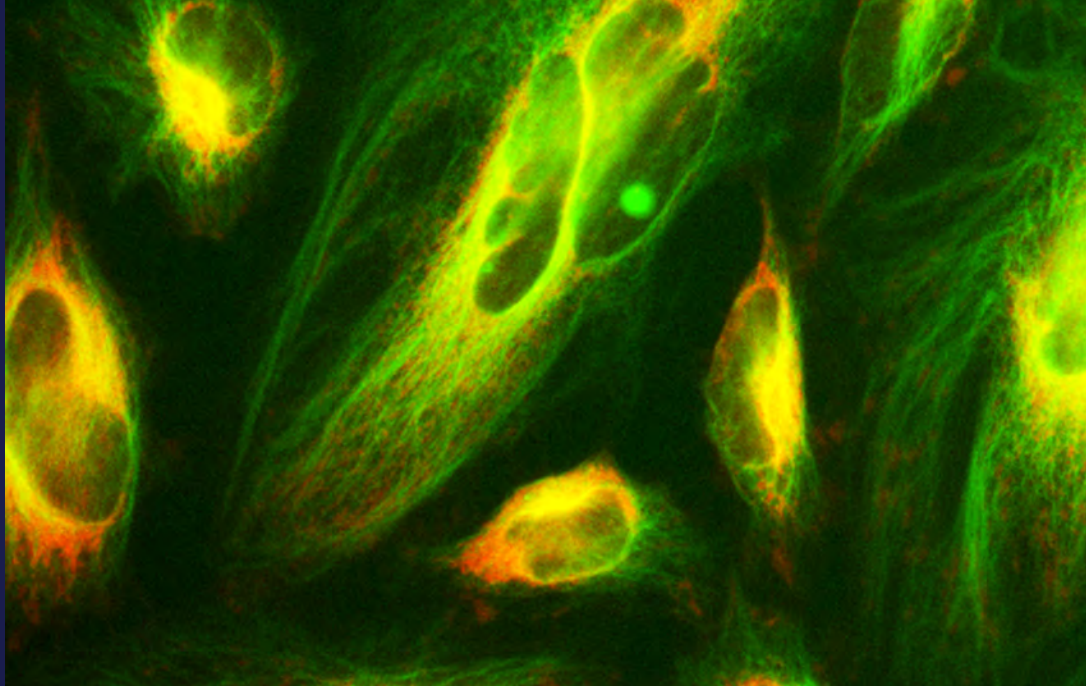
5 BƯỚC ĐỂ QUAN SÁT TẾ BÀO SỐNG

Hãy làm theo hướng dẫn này để
chụp được những bức ảnh đẹp nhất
có thể

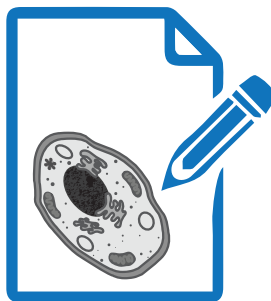
Mở đầu

Hình ảnh huỳnh quang của tế bào sống là một cách tiếp cận mạnh mẽ để nghiên cứu các quá trình sinh trưởng và phát triển của tế bào. Những tiến bộ gần đây trong việc phát triển và đổi mới thuốc nhuộm huỳnh quang đã mang đến những cải tiến đáng kể cho phép phát hiện và quan sát các quá trình sinh trưởng và phát triển của tế bào. Đồng thời, Những cải tiến mới về quang học, công nghệ cảm biến, các công cụ tính toán và phần mềm cũng đã được tích hợp vào các hệ thống hình ảnh giúp tối ưu hơn và dễ sử dụng hơn.

Tất cả những đổi mới này đã góp phần vào việc áp dụng rộng rãi hình ảnh huỳnh quang trong nghiên cứu liên quan đến tế bào, chẳng hạn như sinh học tế bào gốc, nghiên cứu y học, khám phá thuốc và nghiên cứu môi trường.

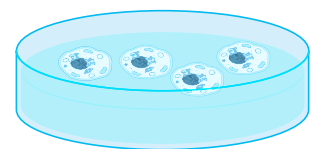


1



Lập kế hoạch—thiết kế thí nghiệm với việc xem xét cẩn thận các công cụ và tài nguyên cần thiết cho từng bước

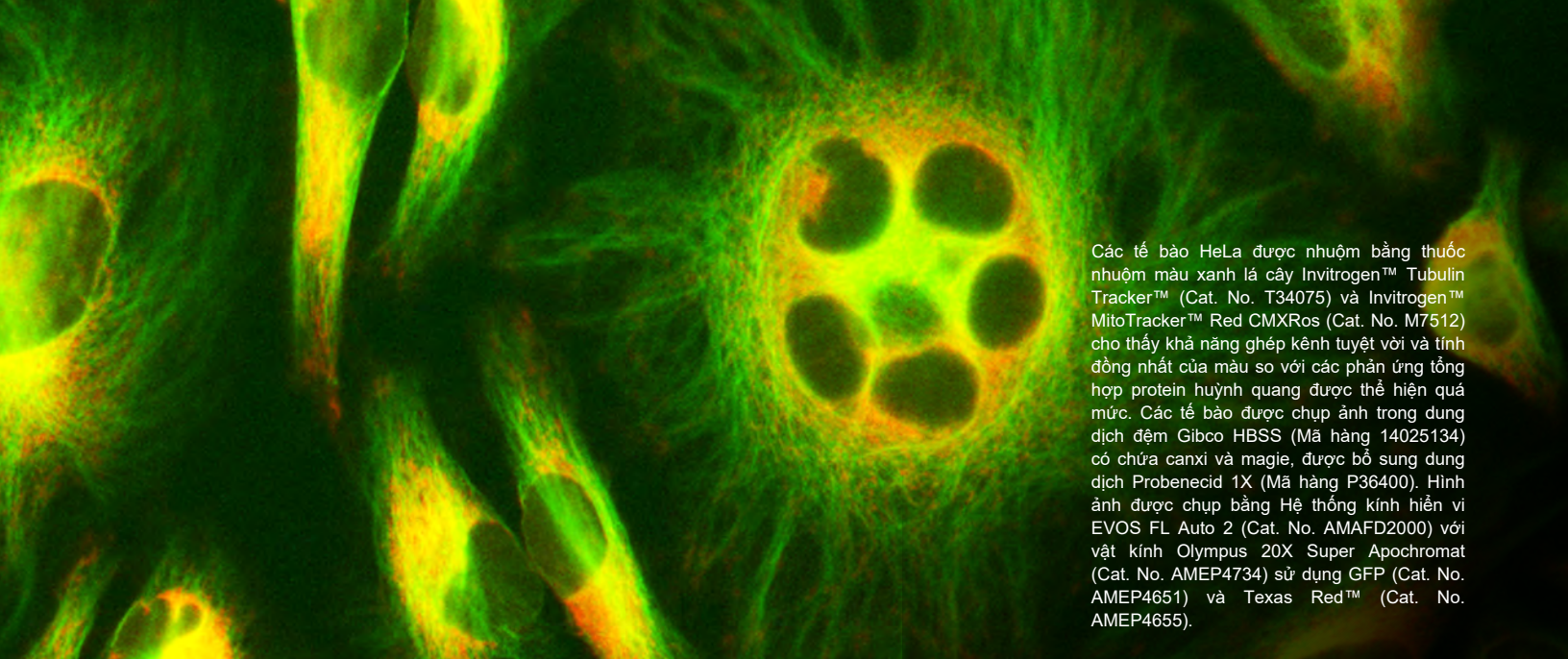
2



Nuôi cấy—duy trì hoặc phát triển tế bào của bạn trong điều kiện tối ưu

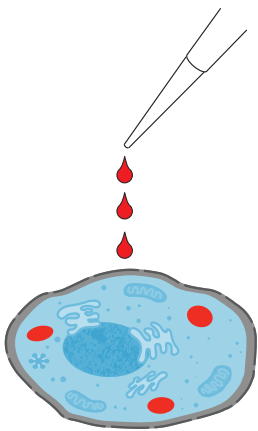
Ảnh bìa

Các tế bào HeLa được nhuộm bằng Tubulin Tracker™ Deep Red (Cat. No. T34076) và NucBlue™ Live ReadyProbes™ Reagent (Cat. No. R37605), cho phép hiển thị tương ứng các cấu trúc vi ống, khung tế bào và nhân trong tế bào sống. Hình ảnh có độ phân giải cao được thu được bằng hệ thống confocal.



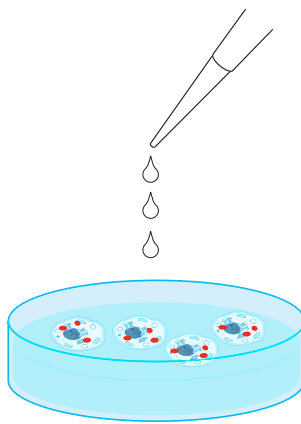
Các tế bào HeLa được nhuộm bằng thuốc nhuộm màu xanh lá cây Invitrogen™ Tubulin Tracker™ (Cat. No. T34075) và Invitrogen™ MitoTracker™ Red CMXRos (Cat. No. M7512) cho thấy khả năng ghép kênh tuyệt vời và tính đồng nhất của màu so với các phản ứng tổng hợp protein huỳnh quang được thể hiện qua mức. Các tế bào được chụp ảnh trong dung dịch đệm Gibco HBSS (Mã hàng 14025134) có chứa canxi và magie, được bổ sung dung dịch Probenecid 1X (Mã hàng P36400). Hình ảnh được chụp bằng Hệ thống kính hiển vi EVOS FL Auto 2 (Cat. No. AMAFD2000) với vật kính Olympus 20X Super Apochromat (Cat. No. AMEP4734) sử dụng GFP (Cat. No. AMEP4651) và Texas Red™ (Cat. No. AMEP4655).

3



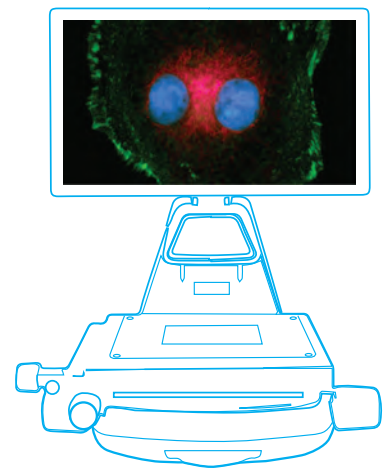
Nhuộm—các cấu trúc tế bào mục tiêu, chức năng tế bào và protein quan tâm được nhuộm bằng thuốc nhuộm chọn lọc

4



Tối ưu hóa—giảm thiểu tín hiệu nền và duy trì khả năng quang hóa của tín hiệu huỳnh quang

5



Hình ảnh—chụp hình ảnh với độ rõ nét và rõ nét tối đa

Xem trang 10–11 để biết các sản phẩm liên quan đến từng bước.

1

Bước 1. Thiết kế thí nghiệm

Tế bào sống cung cấp một trong những mô hình của quá trình sinh học dễ tiếp cận nhất. Hãy cân nhắc những điều sau đây khi quyết định có nên sử dụng hình ảnh tế bào sống cho thí nghiệm của bạn hay không:

Ưu điểm

- Quan sát các quá trình hoạt động của tế bào
- Nghiên cứu và chụp ảnh đồng thời một số quy trình và chức năng bằng cách sử dụng các xét nghiệm đa kênh
- Nghiên cứu cấu trúc tế bào trong môi trường tự nhiên của chúng, mang lại kết quả thực tế hơn gần với các mô hình *in vivo*
- Theo dõi các phân tử và cấu trúc sinh học của tế bào theo thời gian
- Quan sát sự tương tác giữa các tế bào
- Enzyme của tế bào và các phân tử sinh học của tế bào khác vẫn còn trong tế bào

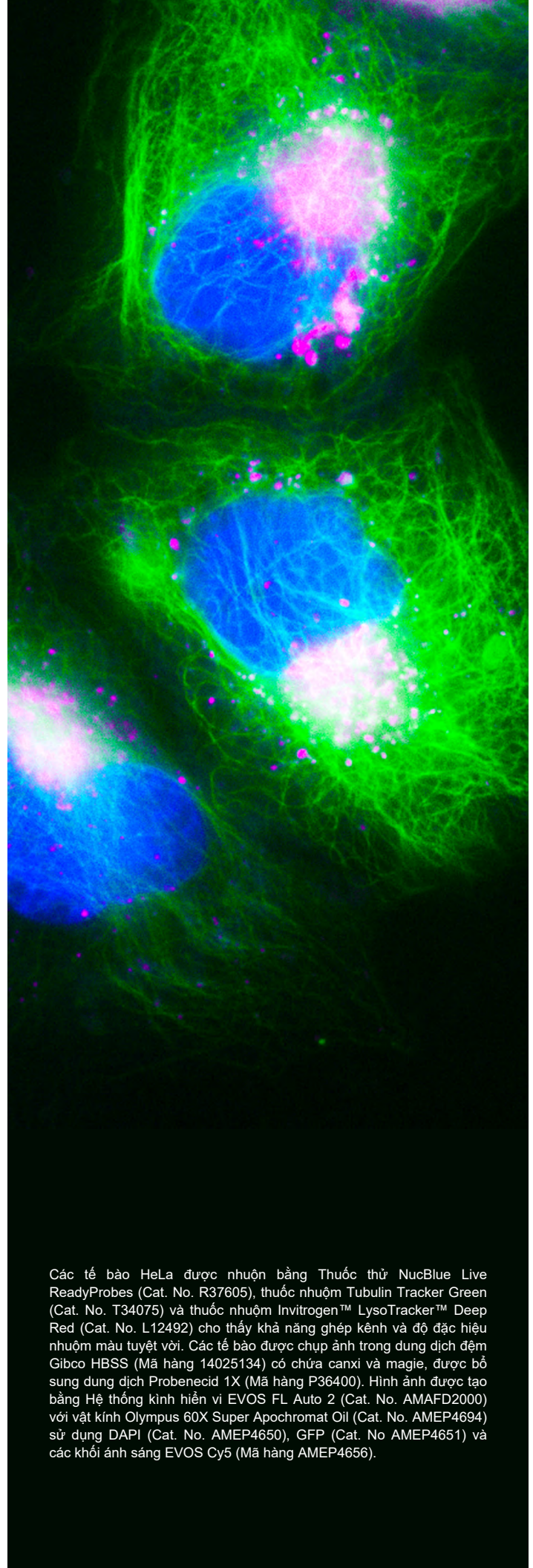
Cân nhắc

- Phải áp dụng phương pháp gắn nhãn mục tiêu với mức độ tính thấp nhất—cho dù đó là phân tử, chức năng tế bào hay trạng thái tế bào
- Các tế bào sống thường không thấm vào các phân tử phát hiện lớn như kháng thể
- Các vật thể chuyển động có thể khó lấy nét hơn
- Một số kỹ thuật có thể gây hại cho tế bào sống
- Tế bào phải được giữ ở trạng thái sinh lý tự nhiên

Tài nguyên nổi bật

Truy cập thermofisher.com/5steps-live bạn sẽ tìm thấy các tài nguyên sau và hơn thế nữa:

- Hướng dẫn lựa chọn thuốc thử
- Fluorescence SpectraViewer
- Trung tâm học tập
- Trường huỳnh quang Invitrogen™ Molecular Probes™
- Công cụ nhuộm tế bào
- Dịch vụ hỗ trợ kỹ thuật



Các tế bào HeLa được nhuộm bằng Thuốc thử NucBlue Live ReadyProbes (Cat. No. R37605), thuốc nhuộm Tubulin Tracker Green (Cat. No. T34075) và thuốc nhuộm Invitrogen™ LysoTracker™ Deep Red (Cat. No. L12492) cho thấy khả năng ghép kênh và độ đặc hiệu nhuộm màu tuyệt vời. Các tế bào được chụp ảnh trong dung dịch đệm Gibco HBSS (Mã hàng 14025134) có chứa canxi và magie, được bổ sung dung dịch Probenecid 1X (Mã hàng P36400). Hình ảnh được tạo bằng Hệ thống kính hiển vi EVOS FL Auto 2 (Cat. No. AMAFD2000) với vật kính Olympus 60X Super Apochromat Oil (Cat. No. AMEP4694) sử dụng DAPI (Cat. No. AMEP4650), GFP (Cat. No. AMEP4651) và các khối ảnh sáng EVOS Cy5 (Mã hàng AMEP4656).

2

Bước 2. Nuôi cấy

Giữ cho các tế bào sống và khỏe mạnh trong các thao tác, phát hiện và chụp ảnh thử nghiệm khác nhau không phải là một nhiệm vụ đơn giản. Việc lựa chọn môi trường đặc biệt quan trọng đối với các thí nghiệm và chụp ảnh giúp rút ngắn thời gian thí nghiệm của bạn, trong đó các tế bào tiếp xúc với điều kiện môi trường xung quanh trong thời gian dài hơn. Để có kết quả đáng tin cậy với việc quan sát các tế bào sống, điều cần thiết là các tế bào phải khỏe mạnh và được giữ trong môi trường mô ta gần giống với nhiệt độ sinh lý, độ pH, mức oxy trong cơ thể.

Tip

Bạn có thể cải thiện độ rõ của hình ảnh, giảm huỳnh quang nền và tối ưu hóa khả năng tồn tại của tế bào bằng cách sử dụng môi trường và bộ đệm rửa được dành riêng để chụp ảnh và phát hiện tế bào sống (xem trang 10)

Sản phẩm nổi bật

- Thermo Scientific™ Nunc™ cell culture vessels with Nunclon™ với xử lý bề mặt Nunclon™ Delta khi sử dụng môi trường Gibco™ để nuôi cấy đã được xác nhận sự phát triển nhất quán trên nhiều dòng tế bào. Đó là sự kết hợp đã được chứng minh dành cho những tế bào "hạnh phúc" và những nhà khoa học "hạnh phúc". Tìm hiểu thêm tại thermofisher.com/cellcultureplastics
- Gibco™ extracellular matrices, scaffolds, and proteins cung cấp mô hình giống như in vivo và môi trường sinh lý giống với cơ thể giúp quan sát sự tương tác giữa các tế bào tốt hơn. Tìm hiểu thêm tại thermofisher.com/3dcellculture
- Máy đếm tế bào tự động Invitrogen™ Countess™ II FL là một công cụ tự động với giá cả phải chăng giúp kiểm tra sức sống tế bào của bạn một cách nhanh chóng và khách quan. Thiết bị có các tùy chọn slide đếm tế bào tái sử dụng hoặc dùng một lần. Tìm hiểu thêm tại thermofisher.com/countess

Các tế bào U2OS được nhuộm bằng thuốc nhuộm Invitrogen™ LysoTracker™ Blue DND- 22 (Cat. No. L7525), thuốc nhuộm Invitrogen™ MitoTracker™ Green FM (Cat. No. M7514) và thuốc nhuộm Tubulin Tracker Deep Red (Cat. No. T34076) hiển thị khả năng ghép kênh tuyệt vời và độ đặc hiệu nhuộm màu. Các tế bào được chụp ảnh trong dung dịch đệm Gibco HBSS (Mã hàng 14025134) có chứa canxi và magie, được bổ sung dung dịch Probenecid 1X (Mã hàng P36400). Hình ảnh được tạo bằng Hệ thống kính hiển vi EVOS FL Auto 2 (Cat. No. AMAFD2000) với vật kính Olympus 60X Super Apochromat Oil (Cat. No. AMEP4694) sử dụng DAPI (Cat. No. AMEP4650), GFP (Cat. No. AMEP4651) và nguồn sáng EVOS Cy5 (Mã hàng AMEP4656).

3

Bước 3. Nhuộm

Nên sử dụng fluorophore phù hợp (protein huỳnh quang nhắm mục tiêu hoặc thuốc thử phân tử nhỏ thấm qua màng) để quan sát cấu trúc hoặc quá trình tế bào mục tiêu của bạn. Các fluorophores bổ sung có thể được sử dụng để quan sát nhiều cấu trúc và quá trình của tế bào, nhưng phải kiểm tra phổ kích thích và phát xạ bằng cách sử dụng Fluorescent SpectraViewer để đảm bảo sự chồng chéo quang phổ ở mức tối thiểu.

Điều quan trọng là tránh sử dụng quá nhiều thuốc nhuộm huỳnh quang vì việc nhuộm huỳnh quang quá mức có thể dẫn đến:

- Nhuộm không đặc hiệu với tín hiệu nền tăng
- Physiological artifacts và nhiễu loạn cấu trúc
- Độc tính tế bào
- Sự chồng chéo quang phổ

Ghi chú:

- **Thuốc thử cấu trúc tế bào sống** giúp xác định các thành phần tế bào
- **Thuốc thử chức năng tế bào sống** giúp xác định các chức năng và quá trình sinh trưởng của tế bào

Tips

- Cân nhắc sử dụng thuốc nhuộm huỳnh quang có bước sóng dài hơn nếu cần tiếp xúc với ánh sáng có bước sóng dài. Điều này sẽ yêu cầu công suất kích thích thấp hơn, giúp giảm độc tính quang học và giúp tế bào khỏe mạnh hơn.
- Nhuộm phải được tối ưu hóa cho kết quả xét nghiệm cụ thể, khả năng tương thích quang phổ và tỷ lệ tín hiệu trên nền.
- Loại bỏ dung dịch ghi nhãn và rửa bằng môi trường mới sẽ làm giảm huỳnh quang nền.

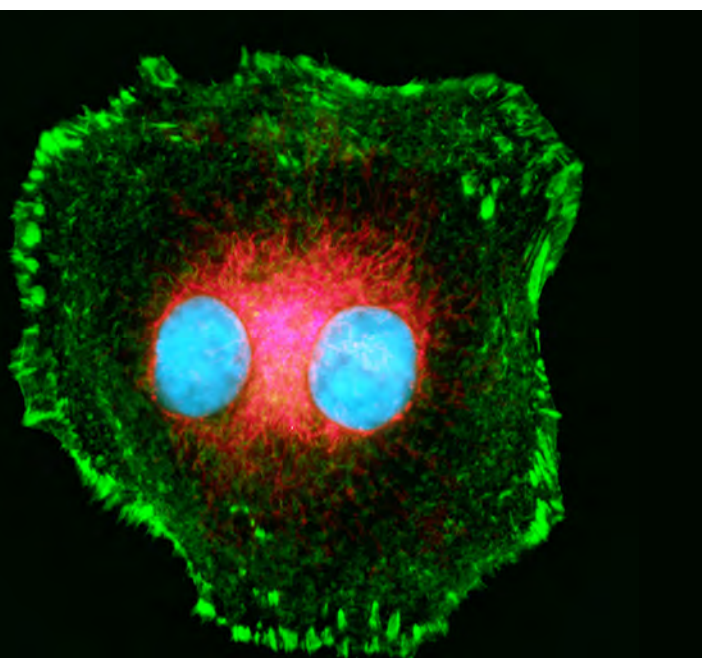
Sản phẩm nổi bật

Invitrogen™ CellLight™ reagents đã được chứng minh là dễ sử dụng nhất để dán nhãn các cấu trúc cụ thể trong tế bào sống. Các protein huỳnh quang mục tiêu được đưa vào bằng hệ thống tải nạp Invitrogen™ BacMam™; không cần kỹ thuật sinh học phân tử. Chỉ cần thêm thuốc thử vào tế bào của bạn, ủ qua đêm và bạn đã sẵn sàng chụp ảnh vào buổi sáng. Tìm hiểu thêm thông tin tại thermofisher.com/celllight

Invitrogen™ CellTracker™ reagents là một loại thuốc thử đa dạng được sử dụng nhuộm tế bào động vật có vú để quan sát những thay đổi về hình thái hoặc vị trí. Những thuốc nhuộm huỳnh quang không độc hại này được thiết kế để tự do đi qua màng tế bào vào tế bào, nơi chúng được chuyển thành các sản phẩm phản ứng không thấm của tế bào. Ủ tế bào bằng thuốc thử CellTracker trong 30 phút sẽ cung cấp ít nhất 72 giờ tín hiệu huỳnh quang (thường là ba đến sáu thế hệ). Tìm hiểu thêm thông tin tại thermofisher.com/celltracking

Invitrogen™ pHrodo™ indicators là thuốc nhuộm phát huỳnh quang có khả năng phát huỳnh quang tăng đáng kể khi độ pH của môi trường xung quanh trở nên có tính axit hơn. Khi kết hợp với dextrans, protein hoặc các hạt khác, thuốc nhuộm pHrodo có thể được sử dụng làm chất cảm biến đặc hiệu cao về quá trình nội bào và thực bào cũng như sự cô lập lysosomal trong tế bào sống, mang lại giải pháp thay thế ưu việt cho các thuốc nhuộm huỳnh quang liên hợp khác như fluorescein và tetramethylrhodamine. Tìm hiểu thêm thông tin tại thermofisher.com/phrodo

Xem danh sách sản phẩm toàn diện trên trang 10–11 hoặc tại thermofisher.com/5steps-live



Các tế bào HeLa được nhuộm bằng thuốc thử CellLight Mitochondria-RFP (Cat. No. C10505) và thuốc thử CellLight Talin-GFP (Cat. No. C10611) trong 24 giờ, sau đó được nhuộm bằng Thuốc thử NucBlue Live ReadyProbes (Cat. No. R37605) trong 15 giờ, phút. Để bảo vệ chất tẩy trắng, các tế bào được ủ bằng Thuốc thử ProLong Live Antifade (thermofisher.com/prolonglive) trong 90 phút trước khi chụp ảnh trên hệ thống kính hiển vi EVOS (thermofisher.com/evos).

4

Step 4. Tối ưu hóa

Tỷ lệ tín hiệu nền có thể được tối ưu hóa bằng cách sử dụng thuốc thử làm giảm huỳnh quang ngoại bào và tăng khả năng quang hóa fluorophore. Điều quan trọng là hình ảnh trong môi trường được thiết kế đặc biệt để duy trì sức khỏe tế bào đồng thời giảm hoặc loại bỏ tín hiệu huỳnh quang nền trong các thí nghiệm chụp ảnh tế bào sống (xem Bảng 1). Việc bổ sung chất ức chế nền tương thích với tế bào sống cũng có thể giúp giảm tín hiệu huỳnh quang nền và không cần bước rửa. Thuốc thử chống phai màu cho tế bào sống có thể được áp dụng cho các mẫu để giảm quá trình tẩy quang của fluorophores, ngăn ngừa mất tín hiệu khi phơi sáng nhiều lần hoặc phơi sáng lâu.

Bảng 1. Bước 4 so sánh sản phẩm.

Hóa chất	Rửa tế bào	Short Term imaging	Hình ảnh lên đến 4 giờ	Longterm imaging
Gibco™ PBS, pH 7.4	✓	✓		
Invitrogen™ Live Cell Imaging Solution	✓	✓	✓	
Gibco™ FluoroBrite™ DMEM	✓	✓	✓	✓

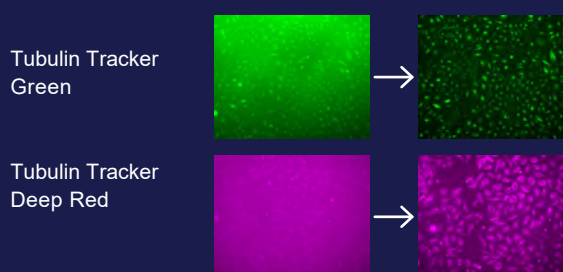
Tips

- Nếu không có kế hoạch nuôi cấy thêm, có thể sử dụng bộ loại bỏ nền để tối ưu hóa tín hiệu bằng cách giảm sương mù và tăng độ tương phản.
- Việc sử dụng thuốc thử chống phai màu đã được chứng minh là làm tăng khả năng quang hóa fluorophore và giảm ảnh hưởng của độc tính quang trong nhiều loại mẫu.

- Gibco PBS, pH 7.4 (Cat. No. 10010023) lý tưởng cho việc rửa tế bào và chụp ảnh ngắn hạn khi không yêu cầu ủ kéo dài.
- Invitrogen Live Cell Imaging Solution (Cat. No. A14291DJ) là một giải pháp trong suốt về mặt quang học được sử dụng để chụp ảnh, nạp thuốc nhuộm và các bước rửa. Nó giúp giữ cho các tế bào khỏe mạnh lên đến 4 giờ.

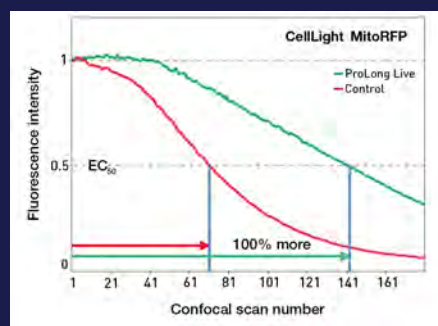
Sản phẩm nổi bật

- Invitrogen™ BackDrop™ Background Suppressor (Cat. No. B10512) được sử dụng khi quan sát tín hiệu nền cao hoặc huỳnh quang yếu ở các kênh màu xanh lam, xanh lục hoặc đỏ.

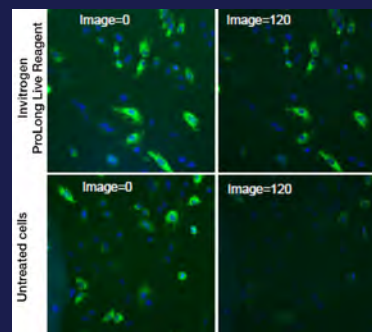


Các tế bào HeLa sống được nhuộm với thuốc nhuộm Tubulin Tracker Green (Mã hàng T34075) và thuốc nhuộm Tubulin Tracker Deep Red (Mã hàng T34076). Việc bổ sung Bộ ức chế nền BackDrop làm giảm đáng kể tín hiệu nền ngoại bào khi không ảnh hưởng đến việc ghi nhận nội bào (phải).

- Invitrogen™ ProLong™ Live Antifade Reagent (Cat. No. P36974, P36975) được sử dụng để tăng khả năng quang hóa fluorophore. Xem sự khác biệt tại thermofisher.com/prolonglive



Khả năng bảo vệ tín hiệu tổng thể do thuốc thử ProLong Live cung cấp so với các mẫu chưa được xử lý được tính toán dựa trên số lần quét trong đó các mẫu đã xử lý và chưa xử lý đạt giá trị EC50. Việc bổ sung thuốc thử ProLong Live cho phép thu được nhiều hơn 100% bằng thuốc thử CellLight Mitochondria-RFP.



Khả năng bảo vệ tín hiệu tổng thể do thuốc thử ProLong Live cung cấp so với các mẫu chưa được xử lý được tính toán dựa trên số lần quét trong đó các mẫu đã xử lý và chưa xử lý đạt giá trị EC50. Việc bổ sung thuốc thử ProLong Live cho phép thu được nhiều hơn 100% bằng thuốc thử CellLight Mitochondria-RFP.

5

Step 5. Hình ảnh

Hình ảnh tế bào sống đòi hỏi sự quan sát tích cực theo thời gian.

Chiếu sáng và phát hiện

Để giảm thiểu độc tính quang học, hãy chọn hệ thống kính hiển vi giúp bạn kiểm soát nguồn sáng tốt nhất. Cố gắng giảm thiểu cường độ ánh sáng, thời gian phơi sáng, phạm vi bước sóng và lượng năng lượng kích thích để chiếu sáng tế bào của bạn trong khi vẫn tạo ra tín hiệu tốt với tín hiệu nền thấp. Sử dụng nguồn sáng mang lại cho bạn tín hiệu cao nhất với mức độ kích thích fluorophore thấp nhất. Trong một số trường hợp (đặc biệt là khi bạn muốn chụp ảnh trong thời gian dài), bạn nên giảm độ phân giải bằng cách sử dụng thời gian phơi sáng ngắn hơn hoặc độ phóng đại thấp hơn để các tế bào khỏe mạnh hơn.

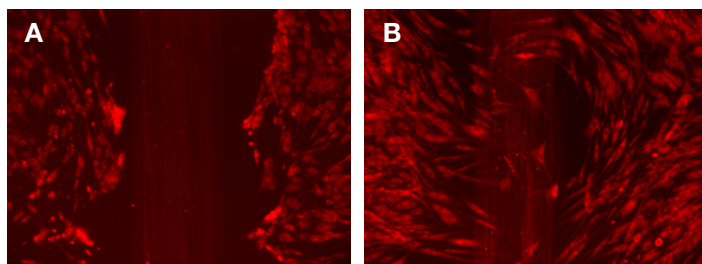
Việc chụp ảnh tế bào sống long-term imaging có thể gặp khó khăn vì mục tiêu có thể di chuyển ra khỏi tiêu điểm trong quá trình thí nghiệm. Nhiều kính hiển vi có tính năng lấy nét tự động có thể giúp bạn lấy nét lâu hơn và giảm độ lệch tiêu cự. Ngoài ra, duy trì tế bào ở nhiệt độ không đổi và giữ thể tích dung dịch trong bình không đổi sẽ giúp làm trôi tiêu cự.

Kiểm soát môi trường

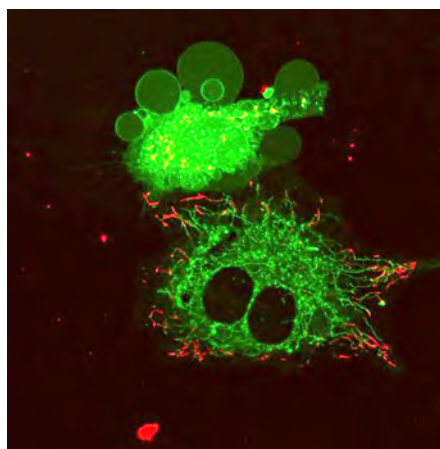
Nhiều tế bào không thể chịu đựng được sự chênh lệch nhiệt độ, độ ẩm, độ pH và độ ẩm tối ưu của chúng. Yêu cầu khác nhau tùy thuộc vào câu hỏi thử nghiệm mà bạn đang thực hiện. Ví dụ, các thí nghiệm điều tra sự phát triển và phân chia tế bào có thể có một loạt yêu cầu khác với các thí nghiệm liên quan đến kích hoạt thụ thể và tích lũy canxi. Một số dòng tế bào bất tử có thể chịu đựng được việc short-term imaging mà không có bất kỳ sự kiểm soát môi trường nào. Ngược lại, đối với các nghiên cứu long-term imaging, kết quả tốt với cả tế bào bất tử và tế bào sơ cấp thường đòi hỏi các thông số môi trường được kiểm soát chặt chẽ.

Tips

- Đối với các thí nghiệm short-term imaging, sử dụng thể tích lớn imaging medium để tránh những thay đổi về độ thẩm thấu và oxy do sự bay hơi của môi trường.
- Để tập trung vào một mẫu, hãy bắt đầu với độ phóng đại thấp. Điều này sẽ giảm thiểu thời gian mẫu tiếp xúc với ánh sáng.
- Tránh sử dụng tính năng lấy nét tự động cho mọi ảnh được chụp trong quá trình time-lapse imaging. Tự động lấy nét có thể tăng lượng năng lượng ánh sáng chiếu vào mẫu lên tới 10 lần.
- Để chụp ảnh trong thời gian dài hơn hoặc chụp ảnh các tế bào nhạy cảm, buồng ủ ấm có thể được thêm vào thiết bị chụp ảnh để cho phép kiểm soát nhiệt độ, độ ẩm và nồng độ CO₂ một cách quý giá.



Vết thương được nuôi trong môi trường HDFn được nhuộm với Invitrogen™ CellTracker™ Deep Red Dye (Cat. No. C34565). (A) Khu vực được chiếu sáng được chiếu sáng liên tục trong 10 giờ. Các tế bào ở khu vực này có dấu hiệu nhiễm độc ánh sáng (mất khả năng sống sót do tế bào không thể phát triển vào vết thương). **(B)** Các tế bào ở vùng không được chiếu sáng cho thấy tế bào có khả năng phát triển trong vết thương.



Tế bào trên cùng cho thấy màng tế bào bị Blebbing nghiêm trọng do tiếp xúc với ánh sáng quá mức. Blebbing là một thuật ngữ dùng để mô tả sự xáo trộn màng do độc tính. Ngược lại, tế bào phía dưới vẫn tương đối khỏe mạnh và không có hình thái bất thường.

Các sản phẩm nổi bật

Đếm tế bào

- Để tránh những sai sót khi tiến hành các bước tiếp theo trong thí nghiệm của bạn với các tế bào không khỏe mạnh, việc kiểm tra nhanh tình trạng tế bào có thể được thực hiện trên Máy đếm tế bào tự động Countess II FL khi được sử dụng cùng với nhiều loại thuốc thử huỳnh quang để phát hiện khả năng sống của tế bào, apoptosis, độc tính tế bào. Slide đếm tế bào tái sử dụng giúp giảm chi phí tiêu thụ. Tìm hiểu thêm tại thermofisher.com/countess

Kính hiển vi

- Được thiết kế đặc biệt cho Hệ thống kính hiển vi **Invitrogen™ EVOS™, the Invitrogen™ EVOS™ Onstage Incubator** là buồng ủ ấm cho phép kiểm soát chính xác nhiệt độ, độ ẩm và ba loại khí để time-lapse imaging các tế bào sống trong cả điều kiện sinh lý và phi sinh lý. Tìm hiểu thêm tại thermofisher.com/evos-osi

Hệ thống phân tích giàu nội dung (HCA)

- **The Invitrogen™ HCA Onstage Incubator** dành cho Thermo Scientific™ CellInsight™ HCA platforms cho phép kiểm soát chính xác nhiệt độ, độ ẩm và mức CO₂ để bạn có thể quan sát và đo lường hoạt động sinh học cũng như những thay đổi theo thời gian. Dữ liệu được thu thập từ các nghiên cứu hình ảnh dài hạn là cơ sở của các nghiên cứu phân tích định lượng, đặc biệt khi kết hợp với Phần mềm Thermo Scientific™ HCS Studio™ để tăng cường khả năng thống kê. Tìm hiểu thêm tại thermofisher.com/hcaosi



Countess II FL Automated Cell Counter



Invitrogen™ EVOS™ M5000 Cell Imaging System with EVOS Onstage Incubator



Thermo Scientific™ CellInsight™ CX7 LZR High-Content Screening Platform with HCA Onstage Incubator

Đánh giá sức khỏe tế bào trước khi chụp ảnh

!Các thử nghiệm về sức khỏe tế bào vitrogen™ đã cho kết quả tốt với máy đọc đĩa Thermo Scientific™ Varioskan™ LUX được trang bị mô-đun khí, có thể đọc đĩa 96 giếng chỉ trong sáu giây. Tìm hiểu thêm tại thermofisher.com/varioskanlux



Varioskan LUX Multimode Microplate Reader

Hướng dẫn lựa chọn hình ảnh tế bào sống

Sử dụng bảng bên dưới để tìm những công cụ cho mỗi bước

Step 1. Thiết kế thí nghiệm	Công cụ thiết kế thí nghiệm	Fluorescence SpectraViewer (thermofisher.com/spectraviewer) Cell Staining Tool (thermofisher.com/cellstaintool) Cell Analysis Learning Center (thermofisher.com/celllearning) Cell Analysis Support Center (thermofisher.com/cellsupport) Contact us (thermofisher.com/contact)	
Step 2. Nuôi cấy	Hóa chất, môi trường, bộ đệm	Nunc chamber slide system, coverglass, and glass-bottom dishes (thermofisher.com/cellcultureplastics) CoverWell Perfusion Chamber Gasket (C18139) FluoroBrite DMEM (thermofisher.com/fluorobrite, A1896702) B-27 Plus Neuronal Culture System (thermofisher.com/b27plus, A3653401) Fetal bovine serum (thermofisher.com/fbs) GlutaMAX Supplement (35050061)	
	Chất nền ngoại bào	Geltrex matrix (A1569601) Poly-D-Lysine (A3890401) Laminin (23017015)	
	Chuyển gen	Invitrogen transfection reagents (thermofisher.com/transfection) Gibco	
	Yếu tố tăng trưởng	growth factors (thermofisher.com/growthfactors)	
Step 3. Nhuộm	Cấu trúc tế bào	Blue	Green
	Màng Plasma	CellLight Plasma Membrane-CFP (C10606)	CellMask Green Plasma Membrane (C37608) CellLight Plasma Membrane-GFP (C10607)
	Nhân	NucBlue Live ReadyProbes Reagent (R37605) CellLight Nucleus-CFP (C10616)	SYTO 9 Green Nucleic Acid (S34854) CellLight Nucleus-GFP (C10602)
	Khung xương tế bào	Alexa Fluor Plus 405 Phalloidin (A30104)	Tubulin Tracker Green (T34075) CellLight Actin-GFP (C10582) CellLight Tubulin-GFP (C10509)
	Lưới nội chất		ER-Tracker Green (E34251) CellLight ER-GFP (C10590)
	lysosomes		LysoTracker Green (L7526) CellLight Lysosomes-GFP (C10596)
	Ty thể		MitoTracker Green FM (M7514) CellLight Mitochondria-GFP (C10508)
	Cell tracking	CellTracker Blue CMF,HC (C12881) CellTracker Violet BMQC (C10094) CellTracker Blue CMAC (C2110)	CellTracker Green CMFDA (C7025) Qtracker 525 Cell Labeling Kit (Q25041MP)
	Chức năng tế bào	Blue	Green
	Khả năng sống	ReadyProbes Cell Viability Imaging Kit, Blue/Green (R37609) ReadyProbes Cell Viability Imaging Kit, Blue/Red (R37610) Calcein Blue, AM (C1429)	LIVE/DEAD Viability/Cytotoxicity Kit (L3224) ReadyProbes Cell Viability Imaging Kit, Blue/Green (R37609) LIVE/DEAD Cell Imaging Kit (R37601) Calcein, AM (C3100MP)
	Phát hiện stress oxy hóa	ThiolTracker Violet (T10095)	CellROX Green (C10444) Click-iT Lipid Peroxidation Imaging Kit (C10446) Premo Cellular Hydrogen Peroxide Sensor (P36243) Premo Cellular Redox Sensor Grx-1-roGFP (P36242)
	Apoptosis (Ap) và autophagy (Au)		CellEvent Caspase-3/7 Green (Ap) (C10423) Premo Autophagy Sensor LC3B-GFP (Au) (P36235) Premo Autophagy Tandem Sensor RFP-GFP-LC3B (Au) (P36239)
	Nhập bào (E) và thực bào (P)		pHrodo Green Zymosan Bioparticles Conjugate (P) (P35365) pHrodo Green E. coli Bioparticles Conjugate (P) (P35366) pHrodo Green S. aureus Bioparticles Conjugate (P) (P35367) CellLight Early Endosomes-GFP (C10586) CellLight Late Endosomes-GFP (C10588) pHrodo Green Dextran, 10,000 MW (E) (P35368) Transferrin from Human Serum, Alexa Fluor 488 Conjugate (E) (T13342) pHrodo iFL Green Microscale Protein Labeling (P/E) (P36015) Zenon pHrodo iFL Green Human IgG Labeling (E) (Z25611) Zenon pHrodo iFL Green Mouse IgG Labeling (E) (Z25609)
	Nội hóa kháng thể		pHrodo iFL Green Microscale Protein Labeling Kit (P36015) Zenon pHrodo iFL Green Human IgG Labeling Reagent (Z25611) Zenon pHrodo iFL Green Mouse IgG Labeling Reagent (Z25609)
	Sự tăng sinh		Click-iT Plus EdU Alexa Fluor 488 Imaging Kit (C10637) Click-iT EdU Alexa Fluor 488 Imaging Kit (C10337)
	Các chỉ số tiềm năng ion (I) và màng (M)	SBFI Sodium Ions (I) (S1263)	Fluo-4, AM Calcium Ions (I) (F14201) Fluo-4 Calcium Imaging Kit (I) (F10489) FluoVolt Membrane Potential Kit (M) (F10488) FluxOR II Potassium Ion Channel (I) (F20015) FluoZin-1, AM Zinc Ions (I) (F24180) FluoZin-3, AM Zinc Ions (I) (F24194) CoroNa Green Sodium Ions (I) (C36676) Magnesium Green, AM (I) (M3735)
Step 4. Tối ưu hóa	Phương tiện và Giải pháp	PBS, pH 7.4 (10010023) Live Cell Imaging Solution (A14291D1) FluoroBrite DMEM (thermofisher.com/fluorobrite)	
	Background suppressor	BackDrop Background Suppressor (B10512)	
	Hóa chất gắn và chống phai	ProLong Live antifade reagents (thermofisher.com/prolonglive)	
Step 5. Hình ảnh	Hóa chất quan sát hình ảnh và phân tích	Countess cell counters (thermofisher.com/countess) EVOS imaging systems with onstage incubator (thermofisher.com/evos) CellInsight high-content analysis platforms with onstage incubator (thermofisher.com/hca)	



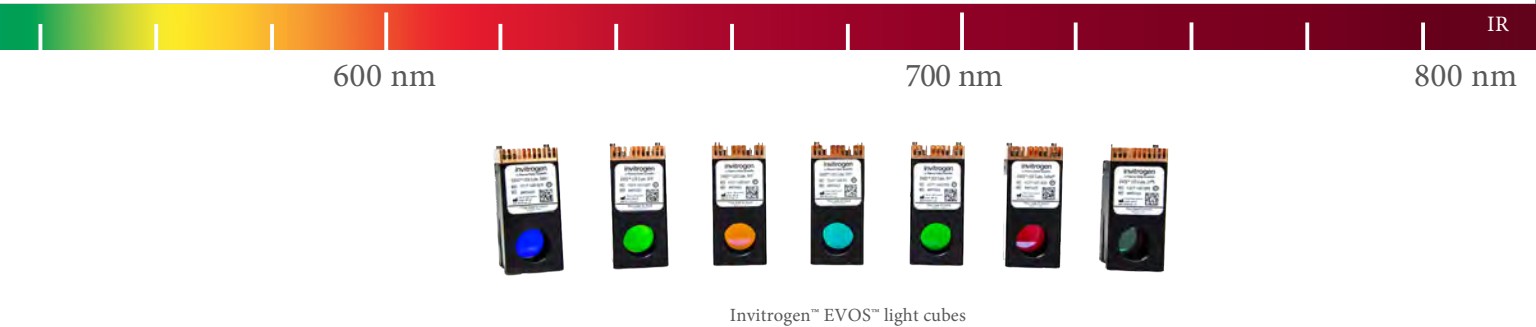
Find out more at thermofisher.com/5steps-live

Kết hợp các thiết bị để phân tích các tế bào của bạn

Việc sử dụng kết hợp các nền tảng phân tích phù hợp sẽ giúp thực hiện các thí nghiệm vốn có thể bị hạn chế do nhu cầu cạnh tranh về thiết bị trong phòng thí nghiệm của bạn. Khi bạn thực hiện time-lapse imaging bằng Hệ thống hình ảnh EVOS FL Auto 2 với EVOS Onstage Incubator.

ngay cả thử nghiệm chụp ảnh kéo dài nhiều ngày cũng sẽ không ảnh hưởng đến khả năng đo dòng canxi hoặc biểu hiện gen bằng cách sử dụng phát quang trên máy đọc đĩa đa chức năng Varioskan LUX.

Orange	Red	Deep Red
CellMask Orange Plasma Membrane (C10045) CellLight Plasma Membrane-RFP (C10608)		CellMask Deep Red Plasma Membrane (C10046)
SYTO 82 Orange Nucleic Acid (S11363) CellLight Nucleus-RFP (C10603)	SYTO 59 Red Nucleic Acid (S11341)	NucRed Live 647 ReadyProbes (R37106)
CellLight Actin-RFP (C10502) CellLight Tubulin-RFP (C10503)		Tubulin Tracker Deep Red (T34076)
CellLight ER-RFP (C10591)	ER-Tracker Red (E34250)	
LysoTracker Red (L7528) CellLight Lysosomes-RFP (C10597)		LysoTracker Deep Red (L12492)
MitoTracker Orange CMTMRos (M7510) CellLight Mitochondria-RFP (C10505)	MitoTracker Red CM-H ₂ Xros (M7513)	MitoTracker Deep Red FM (M22426)
CellTracker Orange CMRA (C34551) Qtracker 585 Cell Labeling Kit (Q25011MP)	CellTracker Red CMTPX (C34552) Qtracker 605 Cell Labeling Kit (Q25001MP)	CellTracker Deep Red (C34565) Qtracker 655 Cell Labeling Kit (Q25021MP)
Orange	Red	Deep Red
ReadyProbes Cell Viability Imaging Kit, Blue/Red (R37610)	LIVE/DEAD Viability/Cytotoxicity Kit (L3224) LIVE/DEAD Cell Imaging Kit (R37601)	
CellROX Orange (C10443)	MitoSOX Red Mitochondrial Superoxide (M36008)	CellROX Deep Red (C10422)
Premo Autophagy Sensor LC3B-RFP (Au) (P36236) Premo Autophagy Tandem Sensor (P36239) RFP- GFP-LC3B (Au) (P36239)		
pHrodo Red Zymosan Bioparticles Conjugate (P) (P35364) pHrodo Red E. coli Bioparticles Conjugate (P) (P35361) pHrodo Red S. aureus Bioparticles Conjugate (P) (A10010) CellLight Early Endosomes-RFP (C10587) CellLight Late Endosomes-RFP (C10589) pHrodo Red Dextran, 10,000 MW (E) (P10361) pHrodo Red Transferrin Conjugate (E) (P35376) Transferrin from Human Serum, Alexa Fluor 555 Conjugate (E) (T35352) pHrodo Red Epidermal Growth Factor Conjugate (E) (P35374) pHrodo iFL Red Microscale Protein Labeling (P/E) (P36014) Zenon pHrodo iFL Red Mouse IgG Labeling (E) (Z25610) Zenon pHrodo iFL Red Human IgG Labeling (E) (Z25612)	Transferrin from Human Serum, Alexa Fluor 594 Conjugate (E) (T13342)	Transferrin from Human Serum, Alexa Fluor 647 Conjugate (E) (T23366)
pHrodo Red Epidermal Growth Factor Conjugate (P35374) pHrodo iFL Red Microscale Protein Labeling Kit (P36014) SiteClick Antibody Azido Modification Kit (S20026) Click-iT pHrodo iFL Red sDIBO Alkyne for Antibody Labeling (C20034) Zenon pHrodo iFL Red Human IgG Labeling Reagent (Z25612) Zenon pHrodo iFL Red Mouse IgG Labeling Reagent (Z25610)	pHrodo iFL Red Microscale Protein Labeling Kit (P36014)	
Click-iT Plus EdU Alexa Fluor 555 Imaging Kit (C10638) Click-iT EdU Alexa Fluor 555 Imaging Kit (C10338)	Click-iT Plus EdU Alexa Fluor 594 Imaging Kit (C10639) Click-iT EdU Alexa Fluor 594 Imaging Kit (C10339)	Click-iT Plus EdU Alexa Fluor 647 Imaging Kit (C10640) Click-iT EdU Alexa Fluor 647 Imaging Kit (C10340)
Rhod-2, AM Calcium Ions (I) (R1245MP) Rhod-3 Calcium Imaging Kit (I) (R10145)	FluxOR Red Potassium Ion Channel (I) (F20018)	



Phương pháp giáo dục

Molecular Probes School of Fluorescence

Các phần trong e School of Fluorescence được phát triển bởi các nhà khoa học nội bộ của chúng tôi. Mục đích của chúng tôi là đề cập đến mọi thứ mà chúng tôi ước mình đã biết khi lần đầu tiên bắt đầu làm việc với thuốc thử và kháng thể huỳnh quang, bao gồm thông tin cơ bản về các kiến thức cơ bản về huỳnh quang và các mẹo thực tế cho thiết kế và giao thức thử nghiệm của bạn.

Tìm các quy trình, hướng dẫn khắc phục sự cố và nhiều nội dung khác tại thermofisher.com/mpsf

Tạp chí ứng dụng sinh học tế bào BioProbes

Tạp chí BioProbes là ấn phẩm xuất bản hai năm một lần nêu bật nhiều sản phẩm và ứng dụng sinh học tế bào. Từ thuốc thử và công nghệ mới đến đánh giá sản phẩm và các công cụ trực tuyến, chúng tôi luôn cập nhật cho bạn những đột phá mới nhất trong phân tích tế bào và protein.

Đọc số mới nhất tại thermofisher.com/bioprobables

Fluorescence SpectraViewer

Vẽ đồ thị và so sánh quang phổ, kiểm tra khả năng tương thích quang phổ cho nhiều fluorophores và gửi cấu hình qua email cho chính bạn ở định dạng có thể in rõ ràng.

Hãy thử ngay tại thermofisher.com/spectraviewer

Năm bước chụp ảnh tế bào cố định

Truy cập tài nguyên trực tuyến về hình ảnh tế bào cố định của chúng tôi để được hướng dẫn về cách chụp ảnh tế bào cố định tốt nhất. Khám phá các video hướng dẫn và tài hướng dẫn và áp phích miễn phí.

Tìm hiểu thêm thông tin tại thermofisher.com/5steps-fixed

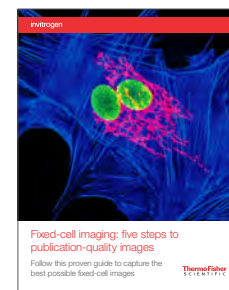
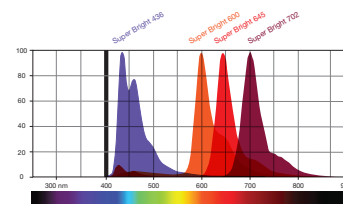
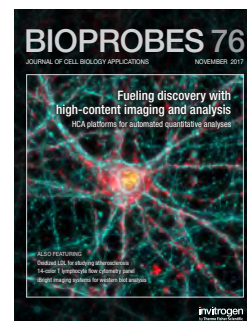
Cẩm nang thẩm dò phân tử

Tài liệu tham khảo phát hiện và nhuộm huỳnh quang đầy đủ nhất hiện có, Sổ tay Invitrogen™ Molecular Probes™—Hướng dẫn về Công nghệ nhuộm và đầu dò huỳnh quang với hơn 3.000 thuốc thử và bộ dụng cụ đại diện cho nhiều loại sản phẩm phát hiện và nhuộm của Invitrogen™.

Tải ngay tại thermofisher.com/handbook

Tìm hiểu thêm tại thermofisher.com/5steps-live

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. © 2019 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. ELYRA and Zeiss are trademarks of Carl Zeiss AG Corp. B-27 is a trademark of Southern Illinois University. Cy is a trademark of GE Healthcare. COL08528 0119



ThermoFisher
SCIENTIFIC