

LysoSensor Yellow/Blue DND-160 (PDMPO)

Cat# CF0604

产品概述

对于活细胞中溶酶体的生物生成与功能动态方面的研究, CYTOCH 提供 LysoSensor Probes 探针——可进入酸性细胞器的荧光 pH 指示剂。LysoSensor Probes 属于嗜酸性探针, 可能通过质子化在酸性细胞器中积聚。这种质子化通过其弱碱基侧链缓解了染料的荧光猝灭, 导致荧光强度增加。因此, LysoSensor Probes 在酸化过程中表现出 pH 依赖性的荧光强度增加。而 LysoTracker Probes 的荧光在很大程度上与 pH 无关。

LysoSensor Probes 的光谱参数和 pKa 值上有所不同 (见表 1)。由于这些探针可能定位在细胞器膜中, 因此细胞环境中的实际 pKa 值可能与表 1 中列出的值不同, 并且只能对细胞器 pH 进行定性和半定量比较。

LysoSensor Green DND-189 在酸性范围内具有最佳的 pH 敏感性 (pKa 约为 5.2), 由于其较低的 pKa 值, LysoSensor Green DND-189 只有在酸性范围内才有荧光。LysoSensor Yellow/Blue DND-160 独特之处在于它呈现出双激发和双发射光谱峰, 这些峰依赖于 pH (见图 1)。然而, 这种 LysoSensor 只在活细胞中表现出 pH 依赖的双发射光谱。LysoSensor Yellow/Blue DND-160 在酸性细胞器中主要呈现黄色荧光, 而在酸度较低的细胞器中则呈现蓝色荧光。双发射测量可对溶酶体或精子顶体等酸性细胞器的 pH 进行比率成像。

探针可单独 (或组合) 使用, 用于研究溶酶体的酸化以及细胞中发生的溶酶体功能或运输的改变。例如, 一些肿瘤细胞中的溶酶体 pH 较正常溶酶体更低, 而另一些肿瘤细胞则含有 pH 更高的溶酶体。此外, 囊性纤维化和其他疾病会导致一些细胞器的酸化缺陷, LysoSensor 探针可在这些研究领域发挥作用。与 LysoTracker 染色的细胞一样, LysoSensor 染色的细胞中溶酶体的荧光可能仅占总细胞荧光的一小部分, 这将难以通过流式细胞术或荧光度计量来量化溶酶体数量或其 pH。

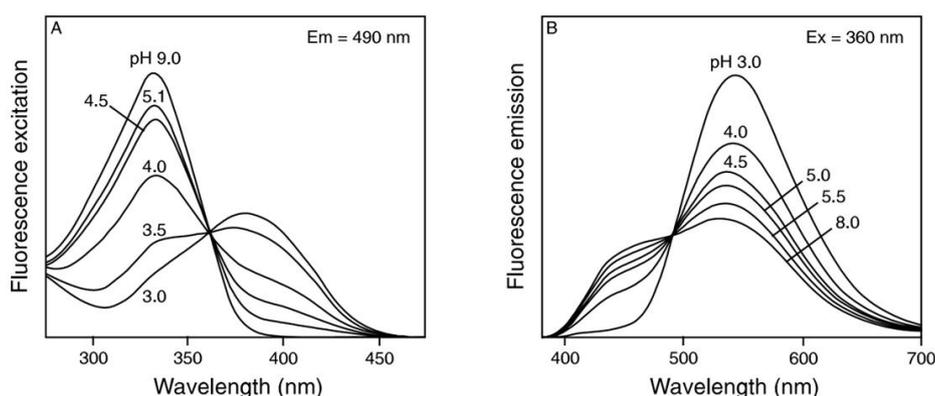
表 1. LysoTracker 和 LysoSensor 探针的光谱及 pKa 特性

货号	产品名称	Abs * (nm)	Em * (nm)	pKa
CF0601	LysoTracker Green DND-26	504	511	NA
CF0602	LysoTracker Red DND-99	577	590	NA
CF0603	LysoSensor Green DND-189	443	505	5.2
CF0604	LysoSensor Yellow/Blue DND-160 (PDMPO)	329, 384‡	440, 540‡	4.2

*吸收(Abs)和荧光发射(Em)最大值, 在水缓冲液或甲醇中测定; 数值在细胞环境中可能有所不同

‡双吸收双荧光发射最大值, 对 pH 值敏感

图 1. LysoSensor Yellow/Blue DND-160 的 pH 依赖性光谱响应 (A) 荧光激发光谱和 (B) 荧光发射光谱



产品/组分信息

产品名称	货号	规格
LysoSensor Yellow/Blue DND-160 (PDMPO)	CF0604-50 μ L	50 μ L

储存方式

-25~-15°C 保存；干燥避光；避免反复冻融。

使用说明

产品形式为 1 mM 探针原液溶于无水 DMSO 中。打开前，将小瓶恢复至室温，并使用离心机对试剂瓶进行简短的离心，以使 DMSO 溶液沉淀在瓶底。最佳染色所需的探针浓度会因应用而异。以下是一些可作为指导的初始条件，染色条件则需要根据特定的细胞类型、细胞或组织对探针的渗透性等因素进行优化。

1. 将 1 mM 探针储备液在所选的培养基或缓冲液中稀释至最终工作浓度。对于 LysoSensor 探针至少使用 1 μ M。为了尽量减少潜在的背景伪影，染料的浓度应尽可能低。

【注】如果细胞在染料处理后孵育于无染料的培养基中，通常观察到荧光信号下降和细胞膨胀的现象。

2. 对于贴壁细胞，在培养皿内盖玻片上培养细胞。当细胞达到所需密度时，从培养皿中弃去培养基，加入预热至 37°C 的含有探针的培养基。根据特定细胞类型的生长条件，将细胞孵育 30 分钟至 2 小时。然后更换为新鲜培养基，使用配备正确滤光片的荧光显微镜观察细胞。如果细胞未被充分染色，建议增加染料浓度或延长染色时间。

【注】根据 LysoTracker Green DND-26 和 LysoSensor Yellow/Blue DND-160 探针内化的动力学研究表明，这些染料进入活细胞可能在几秒内发生，并且这些溶酶体探针可能对溶酶体产生“碱化效应”，使得长时间与这些探针共孵育会导致溶酶体 pH 升高。因此，这些探针若要作为有效的 pH 指示剂，建议仅与细胞在 37°C 下孵育 1-5 分钟。

3. 对于悬浮细胞，离心沉淀细胞并吸去上清液。用预热至 37°C 含探针的培养基轻轻重悬细胞。根据特定细胞类型的生长条件，将细胞孵育 30 分钟至 2 小时（参见上文关于这些探针内化的说明）。通过离心重新沉淀细胞，并用新鲜预热培养基重悬。使用正确滤光片的荧光显微镜观察细胞。如果细胞未被充分染色，建议增加标记浓度或延长染色时间。

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

