

LysoSensor Green DND-189 溶酶体绿色荧光探针

产品简介

LysoSensor®系列探针是主要对活细胞中的酸性区室（如溶酶体、顶体精子）动态合成和功能进行研究的一类荧光探针，该类探针的染色具有向酸性，可通过质子化作用在酸性细胞器内累积。该类探针的这种质子化作用还可解除染料的荧光淬灭性，使其所发射的荧光强度更强。因此，与 LysoTracker 系列探针相比，LysoSensor®系列探针随着细胞器的酸化程度其荧光强度呈 pH 依赖型(向酸)增强。

本品 LysoSensor™ Green DND-189 具有较低的 pKa 值，仅在酸性区室内才具有荧光(适用的 pH 检测范围是 4.5-6.0，pKa 为 5.2。)。

本品 50ul 规格以溶于无水 DMSO 的 1 mM 储存液形式提供。其他 mg 规格为粉剂形式提供。如对活细胞中的酸性区室进行选择标记和染色，可选择 LysoTracker®系列探针。#FS1339 -Green DND-26, #FS1340-LysoTracker Blue DND-22 溶酶体蓝色荧光探针，#FS1341-LysoTracker Red 溶酶体红色荧光探针 DND 99。

产品组成

名称 / 编 号	FS1412	FS1412	FS1412	FS1412	Storage
LysoSensor Green DND-189 溶酶体绿色荧光探针	50ul (1 mM in DMSO)	1mg	5mg	10mg	-20℃干燥保存
使用说明书	1 份				

基本特性

CAS : 152584-38-8

化学名: 3-((2-Morpholinoethyl)amino)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]isoquinolin-7-one

同义名: 3-((2-吗啉代乙基)氨基)-7H-苯并[de]苯并[4,5]咪唑并[2,1-a]异喹啉-7-酮

分子式: C₂₄H₂₂N₄O₂

分子量: 398.46

外观: 橙红色/液体或固体

最大激发/发射波长: 443/505 nm

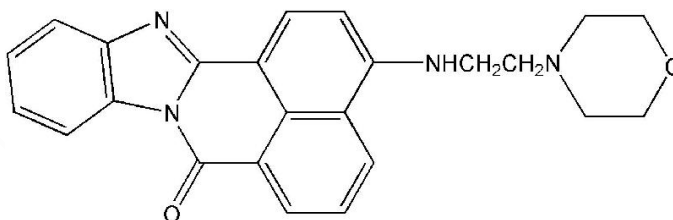
荧光颜色: 绿色

pH 检测范围: 4.5-6.0

pKa: ~5.2

溶解性: 溶于 DMSO (1~5mM)

结构式 (Structure) :



储存条件: 溶液状态-20℃避光干燥保存，半年有效。粉剂状态-20℃避光干燥保存，2 年有效。

使用方法（仅供参考）

使用前，先将本品取出回温至室温，并对其进行简单低速离心使溶液降至管底。**[注]**50ul(1 mM solution in DMSO)-20℃避光保存，半年有效。粉剂状态-20℃避光干燥保存，2年有效。建议用无水 DMSO 溶解 LysoSensor™ Green DND-189 配制成 1-5mM 的储存液，第一次使用，建议储存液现配现用，分装成单次用量，严格做到≤-20℃密封干燥冻存，以防止受潮。为了保证良好的实验效果，工作液是需要现配现用的，不建议保存。

1. 工作液的配制

利用生长培养基或合适的缓冲液将 1mM 储存液稀释至工作浓度，工作液需现配现用。对于 LysoTracker 系列溶酶体探针，推荐工作液浓度至少为 1 μM；

【注意】：①为了降低探针加载过度可能引起的假阳性，建议在不影响染色效果的情况下尽量使用低浓度。
②若细胞在染色后于不含染料的培养基中孵育，会观察到荧光信号的衰减和细胞的空泡化现象。

2. 染色步骤（贴壁细胞）

- 1) 将细胞置于培养皿中的盖玻片上，加入合适培养基，使其爬片生长。
- 2) 待细胞生长到合适密度，吸除培养液，加入适量 37℃预热的含探针培养基（必须完全覆盖住细胞），在适合特定细胞类型的生长条件下孵育细胞 30min-2h（具体孵育时间需根据细胞类型而定）。
- 3) 利用不含探针的新鲜培养基替换上述染色液，并且用装有合适滤片的荧光显微镜进行观察（见附表 1）。若染色不够充分，建议增加染料浓度或延长染色时间，使得染料能聚集在溶酶体上。

3. 染色步骤（悬浮细胞）

- 1) 离心沉淀细胞，吸除上清。
- 2) 利用适量 37℃预热的含探针培养基重悬细胞，在适合特定细胞类型的生长条件下孵育细胞 30min-2h（具体孵育时间需根据细胞类型而定）。
- 3) 离心，吸除染色液，加入新鲜培养基重悬细胞。
- 4) 用适当的仪器如激光共聚焦、流式细胞仪、荧光酶标仪，以及波长 443/505 nm 来进行检测。若染色不够充分，建议增加染料浓度或延长染色时间，使得染料能聚集在溶酶体上。

FAQ 常见问题及解决方案

Q:这个探针可以染自噬溶酶体吗？可以染色其他酸性细胞器吗？

A:自噬溶酶体和正常的溶酶体在形态结构上有较大差异，该探针主要是针对常规的溶酶体染色，对于自噬溶酶体的染色效果不是很确定。可以参考一些使用过该产品发表的文献资料确定可以染色其他酸性细胞器。

Q:可以和二抗一起孵育吗？

A:不可以，孵育二抗必须要透化处理，而透化会破坏溶酶体的酸性环境，影响染色效果。

Q:植物细胞和组织适用吗？

A:理论上可以，一般植物细胞或者组织要制成原生质体。

Q:染色后可以放置一夜，再荧光检测吗？

A:不可以。建议染色完立即检测荧光，荧光信号会随时间而逐渐减弱。

Q:如何做到同时染色溶酶体和细胞核的？

A:建议用 Hoechst 33258/ Hoechst 33342 染色细胞核，这个染料可以直接染活细胞不需要固定操作。

Q:荧光信号较弱？

A:大致有 3 个原因：

- 1.溶酶体探针浓度过低，建议适当增大浓度；
- 2.染色时间过短，建议延长染色时间；
- 3.染色完之后，放置过长时间才检测信号；建议染色完立刻检测。

Q:没有荧光信号?

A:大致有 3 个原因:

- 1.先用多聚甲醛、乙醛等固定细胞,破坏了溶酶体的酸性环境。
- 2.染色完后,又用多聚甲醛固定细胞,或者透化细胞,破坏了溶酶体的酸性环境;染色前后均不建议固定细胞;
- 3.染色完到上机检测这一段时间过长,并且没有避光处理。建议避光染色,染色完立即检测荧光信号。

Q:在活细胞状态下,用 50 μ M 探针染色 50 min, 然后发现除了溶酶体,细胞质中也有荧光信号,这主要是什么原因导致?

- A:**
- 1.溶酶体探针浓度过大,建议适当降低浓度;
 - 2.溶酶体探针染色时间过长,建议适当缩短时间。

注意事项

- 1) 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2) 荧光染料均存在淬灭问题,请尽量注意避光,以减缓荧光淬灭。
- 3) 溶酶体探针是对活细胞中的酸性区室进行染色。所以必须要在活细胞状态下染色。
- 4) LysoTracker®--不依赖 pH 的活细胞溶酶体荧光探针 (FS1339、FS1340 和 FS1341) LysoSensor™--依赖 pH 的活细胞溶酶体荧光探针 (FS1412 和 FS1441)。
- 5) 染色前后均不建议固定。固定后会破坏溶酶体的酸性环境从而会造成荧光减弱甚至消失的情况。

相关产品

产品货号	产品名称	规格
FS1339-50ul	LysoTracker Green DND-26 溶酶体绿色荧光探针	50ul
FS1340	LysoTracker Blue DND-22 溶酶体蓝色荧光探针	50ul
FS1341	LysoTracker™ Red DND-99 溶酶体红色荧光探针	50ul
FS1412	LysoSensor Green DND-189 溶酶体绿色荧光探针	50ul
FS1441	LysoSensor™ Yellow/Blue DND-160 溶酶体黄/蓝色荧光探针	50ul
FS1430	DQ-BSA-Red 溶酶体活性检测	50 μ g
FS1431	DQ-BSA-Green 溶酶体活性检测	50 μ g