

LysoSensor™ Yellow/Blue DND-160 (PDMPO)

DND-160 溶酶体黄/蓝色荧光探针

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。

LysoSensor Yellow/Blue DND-160（黄/蓝色溶酶体探针）常常简写成 PDMPO，普遍用作海洋硅藻中二氧化硅沉积和运输的一种示踪剂。是一种独特的比率型探针，呈现 pH 依赖性的双激发和双发射光谱峰（见 Fig 1）。然而，活细胞中这一探针仅呈现 pH 依赖的双发射光谱（发射波长比率~450/510nm，激发波长~365nm）。在酸性细胞器中，LysoSensor Yellow/Blue DND-160 主要呈现黄色荧光，而在酸性偏低的细胞器中具有蓝色荧光。双发射波长的测定允许比率成像分析在酸性细胞器比如：溶酶体或精子顶体内的 pH。其 pKa 值约为 4.2。详见图 1

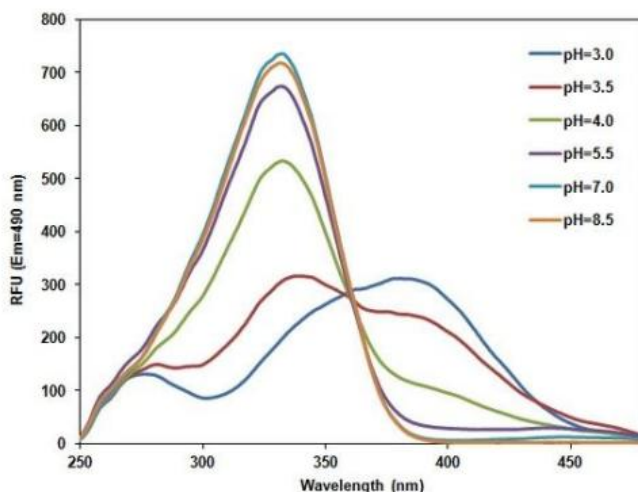


图 1: pH 依赖激发光谱。

LysoSensor Yellow/Blue DND-160（黄/蓝色溶酶体探针）的作用机制：

PDMPO 本身是一种弱碱，中性状态下能自由穿透进入细胞膜。一旦进入酸性细胞器，分子变得质子化且困住不能外露，进而堆积。这一质子化反应激发荧光的变化。PDMPO 的 pKa 约 4.2~4.47，使其对典型溶酶体的 pH 范围（pH 4.5~5.0）高度敏感，因此，是一种优秀的溶酶体 pH 探针。

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#FS1371-LysoTracker Deep Red 深红色溶酶体荧光探针。

产品组成

名称	编号	FS1441	FS1441	Storage
LysoSensor™ Yellow/Blue DND-160 (PDMPO) 溶酶体黄/蓝色荧光探针		50ul	1mg	-20℃干燥保存
使用说明书		1 份		

基本特性

同义名: PDMPO

分子式: $C_{20}H_{22}N_4O_3$

分子量: 366.41

外观: 无色/液体或固体

最大激发: ~329nm (中性), ~384nm (酸性)

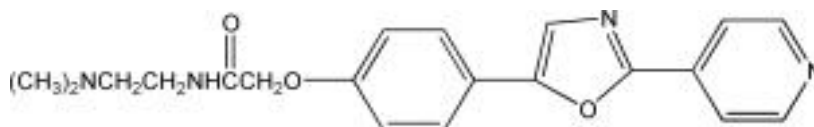
最大发射: ~440nm (蓝光, 中性), ~540nm (黄光, 酸性)

pH 检测范围: 3.5~6.0

pKa: 约 4.2~4.47

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™ Yellow/Blue DND-160 (PDMPO) 溶酶体黄/蓝色荧光探针配制成 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) 用装有合适滤片 (见附表 1) 的荧光显微镜进行观察。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。

【注意】:

另一种方法, 悬浮细胞可能会粘附到经 BD Cell-Tak 处理的盖玻片上, 此时, 可用类似于贴壁细胞的方法进

行染色。

附表 1. LysoTracker&LysoSensor&DQ-BSA 系列溶酶体探针的光谱总结

货号	产品名称	Abs (nm)	Em(nm)	pKa
FS1339	LysoTracker Green DND-26 绿色溶酶体	504	511	N/A
FS1340	LysoTracker Blue DND-22 蓝色溶酶体荧光探针	373	422	N/A
FS1341	LysoTracker Red DND-99 红色溶酶体	577	590	N/A
FS1371	LysoTracker Deep Red 深红色溶酶体荧光探针	647	668	N/A
FS1441	LysoSensor Yellow/Blue DND-160 黄/蓝色溶酶体荧光探针	329, 384[2]	440, 540[2]	4.2
FS1412	LysoSensor Green DND-189 溶酶体绿色荧光探针	443	505	5.2
FS1430	DQ-BSA-Red 溶酶体活性检测红色荧光探针	589	616	N/A
FS1431	DQ-BSA-Green 溶酶体活性检测绿色荧光探针	490	509	N/A

[注①]:在水溶性缓冲液或甲醇中测定的最大吸收和发射波长; 在细胞环境内数值可能会有些许差异。
[注②]:最大双吸收和发射波长, 对 pH 敏感。

详见我司整理的关于: 溶酶体染色应用选购指南。

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 (货号 FS1339、FS1340、FS1341 和 FS1371)
- 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	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
FS1371	LysoTracker Deep Red 深红色溶酶体荧光探针	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	50μg
FS1431	DQ-BSA-Green 溶酶体活性检测	50μg