上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

LysoTracker Red DND-99 红色溶酶体荧光探针

产品信息

产品名称	产品编号	规格	储存条件
LysoTracker Red DND-99 红色溶酶体荧光探针	S27822	50μl	-20° C 避光干燥保存

产品描述

Lysotracker 探针是向酸性荧光探针，用于活细胞内酸性细胞器的标记和示踪。这些探针具有几个重要特征，包括高度选择靶向酸性细胞器和纳摩尔浓度有效标记活细胞。另外，LysoTracker 系列有几种荧光颜色，特别适合用于多色标记实验。

Lysotracker 探针，含一连接到弱碱基上的荧光素，中性 pH 下呈部分质子化，能够自由穿透细胞膜且典型聚集在球形细胞器上。研究发现，Lysotracker 探针必须在极低浓度（通常约 50nM）下才能获得优异的选择性。这些探针的滞留机制虽然没有被完全研究透，但很可能与酸性细胞器的质子化和滞留性有关，即使后续的弱碱性细胞渗透化合物处理细胞通常不会可逆化染色结果。Lysotracker 探针的内吞化动力学研究显示染料进入活细胞的摄入速率仅几秒即可。然而，这些溶酶体探针会导致溶酶体被碱化，比如长期孵育会诱使溶酶体 pH 的增加。因此，建议成像前用探针孵育细胞的时间仅 1-5min 就好。

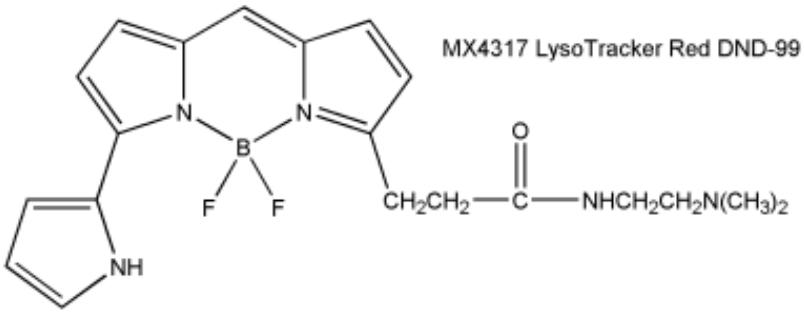
LysoTracker Red DND-99 是对活细胞中的酸性区室进行染色的一种红色荧光染料，具有 577/590 nm 的最大激发/发射波长。本品为 DMSO 储存液，浓度为 1mM。用于活细胞的溶酶体染色，建议工作浓度为 50-75 nM，需根据实际情况做优化调整。

产品特征

1） 分子式：C20H24BF2N5O
2） 分子量：399.2493
3） 外观：紫色液体
4） Ex/Em：577/590 nm

源叶生物

5） 化学结构式：



使用方法

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。第一次使用请将本品按单 次用量分装保存，≤-20° C 避光干燥保存，尽量避免反复冻融。最佳工作浓度需根据不同的实验要求、细 胞类型、细胞或组织的膜通透性等进行优化。

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，推荐工作液浓度为 50-75nM;

【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。

【注意】： 对 Lysotracker Green DND-26 的内化（Internalization）进行动力学研究发现，活细胞摄取此探针的速率 在几秒之内即可完成。然而严重不足的是，该探针展示出溶酶体“碱化效应”，从而，长时间孵育会导致 溶酶体 pH 上升。因此，仅仅当此探针于 37℃孵育细胞 1-5min，才是有用的 pH 指示剂。

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。

【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 系列溶酶体探针的光谱总结

产品名称	Abs (nm)	Em(nm)	pKa
LysoSensor Yellow/Blue DND-160 黄/蓝色溶酶体荧光探针	329,384	440,540	4.2
LysoTracker Red DND-99 红色溶酶体	577	590	N/A
LysoTracker Green DND-26 绿色溶酶体	504	511	N/A
LysoTracker Deep Red 深红色溶酶体荧光探针	647	668	N/A
LysoTracke Blue DND-22 蓝色溶酶体荧光探针	373	422	N/A

源叶生物