Окрашивание живых клеток флуоресцентным красителем для нуклеиновых кислот LUCS® 13

LUCS® 13 — проникающий в клетки ядерный краситель, имеющий яркую зеленую флуоресценцию при связывании с нуклеиновыми кислотами. LUCS® 13 используют для окрашивания РНК и ДНК как в живых, так и в мертвых эукариотических клетках, а также грамположительных и грамотрицательных бактерий. В отличие от DAPI и Hoechst 33342, LUCS 13 не является чисто ядерным красителем, и помимо окрашивания ядер, он также демонстрирует диффузное окрашивание цитоплазмы и митохондрий живых клеток.

Краситель может использоваться совместно с непроникающими в живые клетки ядерными маркерами, такими как YoDi-3, для оценки клеточной выживаемости методами флуоресцентной микроскопии и проточной цитометрии.

Краситель возбуждается при 488 нм, эмиссия регистрируется во флуоресцеиновом канале с пиком 509 нм после связывания с ДНК и 514 нм после связывания с РНК.

LUCS® 13 является полным структурным аналогом SYTO®13.

Протокол

Точный протокол зависит от конкретного типа клеток и экспериментальной задачи. В общем он может быть описан следующим образом:

1. Для приготовления рабочего 1 мкМ раствора LUCS® 13 добавьте 1 мкл 5 мМ раствора LUCS® 13 в 5000 мкл PBS.
2. Адгезированные клетки аккуратно снимите с поверхности роста подходящим способом. С суспензионными клетками начинайте работу со следующего пункта.
3. Промойте клетки один раз охлаждённым PBS (pH7.4). Осадите клетки центрифугированием 5 мин при 300 *g*.
4. Инкубируйте клетки в 1 мл 1 мкМ рабочего раствора LUCS® 13 в течение 30 мин при 37°C.
5. Удалите раствор красителя центрифугированием 5 мин при 300 *g*.
6. Отмойте клетки однократно с помощью PBS.
7. *(Опционально)* При необходимости клетки можно зафиксировать в 3,7% растворе формальдегида в PBS в течение 15 мин, отмыть PBS и докрасить другим красителем.

Важно

- Используйте пластиковые пробирки при работе с растворами LUCS® 13, поскольку разведенный краситель может прилипать к стеклу.
- Более яркое окрашивание может быть получено с буферами, не содержащими фосфатов (например, 15 мМ HEPES в физиологическом растворе).
- Перед началом эксперимента протестируйте несколько концентраций красителя в диапазоне от 10 нМ до 5 мкМ,

Lumiprobe Corporation
115 Airport Dr Suite 160
Westminster, Maryland 21157
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH
Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd
Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

Lumiprobe Limited
Suite 12, 3/F, Great Eagle Centre
23 Harbour Road, Wan Chai
Hong Kong
Mob.: +852-5929-0488 (from HK)
Phone: +86-147-14316277 (from China)
Email: hk@lumiprobe.com

Lumiprobe LTD
2 Tuvim St.
3223562, Haifa
Israel
Phone: +972-(0)4-374-0377
Email: il@lumiprobe.com

Lumiprobe Co., Ltd.
10H-11, Shenmao Commercial Center
No. 59 Xinwen Rd., Meiling Community
Lianhua Street, Futian District
Shenzhen, China
Phone: +86-1471431-6277
Email: cn@lumiprobe.com

чтобы определить наиболее оптимальное разведение красителя. На результат окрашивания влияет ряд факторов: среда для выращивания, плотность клеток, наличие других типов клеток, длительность окрашивания и др.

SYTO® — торговая марка Molecular Probes Inc. в некоторых странах.

Lumiprobe Corporation
115 Airport Dr Suite 160
Westminster, Maryland 21157
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH
Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd
Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

Lumiprobe Limited
Suite 12, 3/F, Great Eagle Centre
23 Harbour Road, Wan Chai
Hong Kong
Mob.: +852-5929-0488 (from HK)
Phone: +86-147-14316277 (from China)
Email: hk@lumiprobe.com

Lumiprobe LTD
2 Tuvim St.
3223562, Haifa
Israel
Phone: +972-(0)4-374-0377
Email: il@lumiprobe.com

Lumiprobe Co., Ltd.
10H-11, Shenmao Commercial Center
No. 59 Xinwen Rd., Meiling Community
Lianhua Street, Futian District
Shenzhen, China
Phone: +86-1471431-6277
Email: cn@lumiprobe.com