

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. Приготовьте 50 мкМ стоковый раствор LUCS 13. Для этого к 10 мкл 5 мМ раствора LUCS 13 добавьте 990 мкл деионизированной воды. Стоковый раствор можно разаликвотить и заморозить для длительного хранения.
2. Для приготовления рабочего 1 мкМ раствора LUCS 13 добавьте 20 мкл 50 мкМ стока LUCS13 в 980 мкл PBS.
3. Адгезированные клетки аккуратно снимите с поверхности роста подходящим способом. С суспензионными клетками начинайте работу со следующего пункта.
4. Промойте клетки один раз охлаждённым PBS (pH7.4). Осадите клетки центрифугированием 5 мин при 300 *g*.
5. Инкубируйте клетки в 1 мл 1 мкМ рабочего раствора LUCS 13 в течение 30 мин при 37°C.
6. Удалите раствор красителя центрифугированием 5 мин при 300 *g*.
7. Отмойте клетки однократно с помощью PBS.
8. *(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 прилипнуть 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, 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

201 International Circle, Suite 135
Hunt Valley, Maryland 21030
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