Lumiprobe
Life science solutions

Окрашивание фиксированных клеток красителем TOR-G4

G-квадруплексы (G4s) представляют собой вторичные структуры, образующиеся в ДНК и РНК за счет неканонических водородных связей между четырьмя гуаниновыми основаниями [1,2]. В ядре ДНК G4s связаны с эпигенетической регуляцией экспрессии генов посредством их взаимодействия с регуляторными белками, такими как транскрипционные факторы и модификаторы хроматина [3,4]. РНК G4s связаны со сплайсингом, транспортом и регуляцией трансляции РНК, а также с РНК-опосредованными стрессовыми реакциями в цитоплазме клетки [5-7].

TOR-G4 — производное тиазолового оранжевого, недавно синтезированный флуоресцентный индикатор G4s [8]. TOR-G4 является низкомолекулярной альтернативой иммунохимии со специфичными к G4 антителами. TOR-G4 позволяет визуализировать G4s на основе изменений продолжительности флуоресценции индикатора при связывании им нуклеиновой кислоты. Продолжительность флуоресценции TOR-G4 самая высокая в присутствии G4s и значительно ниже с другими последовательностями. Внутри клеток TOR-G4 преимущественно колокализуется с РНК в цитоплазме и ядрышках, что делает его первым прижизненным зондом, валидированным для изучения роли РНК G4s в функционировании клеток. TOR-G4 подходит для визуализации РНК G4s с помощью FLIM [8].

Протокол

Важно! TOR-G4 обладает высокой цитотоксичностью с концентрацией GI50 143 нМ, и предназначен для окрашивания только фиксированных клеток.

1. Культивируйте клетки подходящим для визуализации способом.
2. Перед фиксацией промойте клетки трижды холодным PBS.
3. Фиксируйте клетки 4% параформальдегидом в течение 10 мин при 4°C.
4. Перед окрашиванием промойте клетки трижды холодным PBS.
5. Инкубируйте фиксированные клетки с TOR-G4 (5 мкМ в PBS) в течение 2 ч. Точная концентрация и время инкубации зависят от типа клеток.
6. Клетки можно снимать под конфокальным микроскопом (возбуждение — 467 нм, детекция — 540 нм) без предварительной отмывки красителя. Для измерения специфических изменений времени жизни флуоресценции, связанных со связыванием G4 используйте метод FLIM (возбуждение — 483 нм, детекция — 650 нм при связывании с G4).

[1] Trends in Chemistry 2, 123 (2020); [2] Nat Rev Mol Cell Biol 21, 459 (2020); [3] Nucleic Acids Res 49, 8419 (2021); [4] Trends Genet 35, 29 (2019); [5] Nucleic Acids Res 48, 12534 (2020); [6] Trends Biochem Sci 46, 270 (2021); [7] Nucleic Acids Res 49, 5426 (2021); [8] J Am Chem Soc 146, 1009 (2024).

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