

Окрашивание мозга с помощью LumiTracker® Myelin Cyan Stain

LumiTracker® Myelin Cyan — флуоресцентный краситель для селективного окрашивания миелина в центральной нервной системе. Краситель специфически связывается с интактными миелиновыми оболочками и формирует паттерн окраски, совпадающий с иммуногистохимическим выявлением основного белка миелина (MBP). Наиболее интенсивное окрашивание наблюдается в компактном миелине белого вещества.

В отличие от многих традиционных методов окрашивания миелина, LumiTracker® Myelin Cyan способен проникать через гематоэнцефалический барьер и накапливаться в ткани мозга после внутривенного введения. Это позволяет визуализировать миелинизированные структуры как *in vivo*, так и в фиксированных образцах тканей.

Интенсивность флуоресценции LumiTracker® Myelin Cyan значительно снижается в демиелинизированных участках и у животных с нарушенным миелинообразованием, что делает краситель эффективным инструментом для выявления очагов демиелинизации. Благодаря этим свойствам LumiTracker® Myelin Cyan может использоваться для исследования распределения миелина, оценки его целостности и изучения патологий, сопровождающихся демиелинизацией.

LumiTracker® Myelin Cyan Stain поставляется в виде концентрированного 100× раствора в DMSO.

Окрашивание *in vivo*

Для системного введения LumiTracker® Myelin Cyan с целью окрашивания миелина у живых животных.

1. Приготовьте раствор LumiTracker® Myelin Cyan для инъекции. Для одной мыши массой 20–25 г растворите 4 мкл LumiTracker® Myelin Cyan в 396 мкл раствора-носителя, содержащего 5% HCl в физиологическом растворе.
2. Введите раствор внутривенно через хвостовую вену. Используйте иглу 27G и медленно введите весь объем 0,4 мл.
3. Подождите 18 часов после инъекции до эвтаназии животного. Этого времени достаточно для проникновения красителя в мозг и стабильного окрашивания.
4. Глубоко анестезируйте животное и выполните транскардиальную перфузию 4% параформальдегидом (PFA) в PBS (pH 7,3) для фиксации ткани.
5. Извлеките головной мозг и дополнительно фиксируйте его в 4% PFA в течение 24 часов при 4°C.
6. Подготовьте срезы головного мозга для последующего иммуноокрашивания и визуализации.

Окрашивание срезов мозга *in vitro*

Для непосредственного окрашивания предварительно фиксированных срезов ткани.

1. Подготовьте фиксированные срезы головного мозга.
2. Приготовьте рабочий раствор LumiTracker® Myelin Cyan, разведя концентрированный раствор красителя в PBS в соотношении 1:100. Тщательно перемешайте.
3. Инкубируйте срезы с рабочим раствором LumiTracker® Myelin Cyan в течение 20 минут (для срезов толщиной

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

10 мкм) при комнатной температуре в защищенном от света месте.

Важно! Оптимизируйте время инкубации в зависимости от толщины срезов. Для срезов толщиной 50 мкм время инкубации можно увеличить до нескольких часов или оставить образцы на ночь, чтобы обеспечить равномерное окрашивание по всей толщине среза.

4. Дважды промойте срезы PBS для удаления несвязавшегося зонда.
5. ЗаклЮчите срезы под покровные стекла с использованием среды для заключения препаратов либо перейдите к дополнительному иммунофлуоресцентному или другому окрашиванию.

Иммунофлуоресцентное окрашивание

Для оценки колокализации LumiTracker® Myelin Cyan с основным белком миелина (MBP) или другими маркерами после окрашивания миелина выполните следующие действия:

1. Заблокируйте неспецифическое связывание антител. Инкубируйте срезы в 2–5% нормальной сыворотке в 0,1% PBST (PBS с 0,1% Triton X-100) в течение 1 часа при комнатной температуре.
2. Инкубируйте с первичными антителами в 2–5% нормальной сыворотке в 0,1% PBST в течение ночи при 4°C.
3. Промойте 3 раза 0,1% PBST.
4. Инкубируйте со вторичными антителами в 2–5% нормальной сыворотке в 0,1% PBST в течение 2 часов при комнатной температуре или при 37°C.
5. Промойте 3 раза 0,1% PBST, затем 3 раза PBS.
6. ЗаклЮчите срезы под покровные стекла с использованием среды для заключения препаратов.

Визуализация

- Используйте флуоресцентный микроскоп с подходящим набором фильтров для LumiTracker® Myelin Cyan (возбуждение 390–410 нм, эмиссия 470–520 нм).
- Для количественного сравнения получайте изображения всех образцов при одинаковых настройках экспозиции.
- Спектр LumiTracker® Myelin Cyan частично перекрывается с зеленым каналом. Чтобы избежать ложноположительной колокализации из-за спектрального перекрытия, по возможности используйте неперекрывающиеся спектральные каналы, последовательное сканирование и дополнительные контрольные образцы с отдельным окрашиванием.