

DQ-BSA-Red 溶酶体活性检测

货号: D-12051SB

产品状态: 冻干粉

储存条件: 冻干粉-20℃避光干燥保存,长期保存请避光保存于-80℃。溶解后不适于长期保存,可于-20℃避光保存一个月,或分装后于-80℃避光保存半年。

产品规格及包装:

产品名称	产品编号	产品规格
DQ-BSA-RED	D-12051SB	1mg
		5*1mg

产品用途:

本产品可用于可视化检测溶酶体功能,亦可用于正常溶 酶体的亚细胞定位标记实验。

产品介绍:

分子探针 DQ-BSA-Red 是基于新西兰来源的牛血清白蛋白(BSA)的荧光溶酶体活性分子探针,BSA分子内用红色荧光染料进行多位点高浓度标记,标记后的 BSA分子由于高浓度的荧光探针分布,存在高度的荧光自抑制现象(self-quenching), DQ-BSA-Red 在功能正常的活性溶酶体中降解会产生 BSA 蛋白质片段,这些片段具有孤立的荧光团,从而解除染料的自抑制效果,在细胞中发出明亮的荧光(下图 untreat 组)。功能失活的溶酶体则无法降解 BSA 蛋白,从而具有更低的荧光信号,甚至荧光信号几乎完全消失(下图 Bafilomycin A1 组)。

untreat Baflomycin A1

DQ-BSA-Red

针对溶酶体的可视化荧光探针,目前主要为基于溶酶体低 pH 的一系列小分子染料,本产品相较于小分子探针,检测目标为溶酶体的生物水解活性,能够更好的反映溶酶体的功能。针对溶酶体的活性,目前的主流检测方法为以溶酶体水解酶底物的定量酶活试剂盒,相较于这一类的定量检测方

法,本探针可以以可视化的方式直接反映溶酶体的活性。不仅如此,本探针可直接进行活细胞成像,免除了制片、染色或者细胞裂解、离心检测活性等复杂操作。只需在检测前6小时将染料加入活细胞中进行染色,6小时后直接成像即可。

DQ-BSA-Red 染料可被内吞进入细胞,水解前具有极低的荧光背景,到达溶酶体水解后能在溶酶体发出特异且明亮的荧光(见上图)。同时,染料的荧光光谱峰宽较小,兼容其他蛋白或者波长的染料进行共染色;染料具有较好的光热稳定性和化学稳定性,在共聚焦显微镜下可稳定成像较长时间,相较于知名的 lysotrackor 在成像过程更加稳定。

使用方法:

1. 冻干粉溶解

5000rpm 离心以收集可能悬浮于管壁的粉末,于通风橱等无菌环境中,向每支染料加入 1.0 mL 目标溶液 (PBS,完全培养基,水等均可),颠倒混匀即可快速溶解,复溶后的溶液为 1 mg/mL。

2. 细胞染色

溶解后的储存液可以以 10ug/mL 的终浓度直接加入培养中的活细胞中。正常培养 6 小时-12 小时后,更换掉含有染料的培养液即可直接显微镜观察染色情况(活细胞,PFA固定均可)。推荐溶酶体活性相关的处理(基因敲除,药物处理等)应该早于染料进行,即染料加入前,应该保证溶酶体功能已经被破坏,否则在染色期间仍具有活性的溶酶体还能降解 DQ-BSA-Red,导致部分显色。

3. 细胞成像

染色后的细胞可直接在荧光显微镜下进行活细胞观察, 或者固定后观察均可,同时,本探针还可以兼容免疫荧光或 者内源荧光蛋白标记过程,可进行多色成像。使用 561 激光 器或者近似波长激发,595 波长发射光收集信号。

注意事项:

- 1. 推荐-20℃避光短期保存冻干粉,若需长期保存,可于-80℃ 避光保存冻干粉。溶解后的染料不适于长期存放,请尽快 使用。
- 2. 冻干粉为粉末状态,可由于静电等因素粘附于管壁、管盖等位置,溶解前请先离心收集,降低粉末样品的损失。
- 3. 染色的工作浓度和时间可根据细胞内吞过程的活跃程度 适当调整,提高工作浓度可以提高细胞对探针的内吞数量, 适当延长孵育时间也可增加信号累计,可根据具体细胞情 况进行优化。