

Gtracker Lyso Red 溶酶体染色试剂使用说明书

一、产品概述

Gtracker Lyso Red 溶酶体染色试剂是一款专为特异性标记活细胞溶酶体而设计的荧光探针，凭借其独特的化学特性，能精准靶向细胞内的溶酶体，为溶酶体的形态观察、分布分析及功能研究提供可靠的工具。

该试剂荧光信号强且稳定，受背景干扰小，操作简便，适用于多种细胞生物学研究场景，助力科研人员深入探索溶酶体在细胞生理、病理过程中的作用。

二、染色原理

Gtracker Lyso Red 是一种带有弱碱性的荧光探针，可自由穿过细胞膜进入细胞。溶酶体内部为酸性环境（pH 约 4.5 - 5.0），当染色剂进入细胞后，其弱碱性基团在溶酶体的酸性条件下发生质子化，形成带正电荷的分子，从而被“捕获”并滞留在溶酶体内，实现对溶酶体的特异性标记。

在激发光（激发波长约 577 nm）照射下，该染色剂会发射出红色荧光（发射波长约 590 nm），使溶酶体在荧光显微镜下清晰可见。

三、产品特性

1. **特异性强**：能精准靶向溶酶体，与其他细胞器几乎无交叉反应，确保染色结果的特异性和准确性。
2. **低毒性**：在推荐工作浓度下，对活细胞毒性极低，不会影响细胞的正常生理活动，适用于长时间的细胞观察。
3. **荧光稳定**：荧光信号强且稳定性好，能在较长时间内保持清晰的成像效果，便于进行动态观察。
4. **操作简便**：无需复杂的预处理步骤，染色流程简单快速，可在短时间内完成染色操作。
5. **适用范围广**：适用于多种培养细胞系，包括贴壁细胞和悬浮细胞。

四、适用范围

1. **细胞生物学研究**：可用于观察活细胞内溶酶体的形态、大小、分布及动态变化，为研究溶酶体的生物发生、运输等过程提供直观依据。
2. **自噬研究**：在细胞自噬过程中，溶酶体与自噬体融合形成自噬溶酶体，该试剂可用于监测这一过程中溶酶体的形态和功能变化，辅助研究自噬机制。
3. **疾病机制研究**：溶酶体功能异常与多种疾病（如溶酶体贮积症、神经退行性疾病等）密切相关，该试剂可用于相关疾病模型中溶酶体的变化分析，为疾病机制研究提供支持。
4. **药物筛选**：可用于评估药物对溶酶体功能的影响，为药物筛选和药效评价提供参考。



五、产品组成

产品名称	规格	说明
Gtracker Lyso Red 储备液	50 μ g	使用前配置
说明书	1 份	包含产品信息、操作步骤、注意事项等内容。

六、操作步骤

(一) 试剂准备

1. 从 -20 $^{\circ}$ C 冰箱取出 Gtracker Lyso Red 储备液，置于冰上避光解冻。
2. 用无血清培养基、PBS 缓冲液或含钙镁离子的 HBSS 缓冲液将储备液稀释为工作液，推荐工作浓度为 50 - 75 nM。稀释时需充分混匀，避免产生气泡。工作液需现配现用，不可储存后再次使用。

(二) 贴壁细胞染色

1. 培养贴壁细胞至对数生长期，吸弃培养皿中的培养基，用预热的 PBS 缓冲液轻轻冲洗细胞 2 次，以去除残留培养基。
2. 加入适量的 Gtracker Lyso Red 工作液，确保工作液完全覆盖细胞，置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中避光孵育 30 - 120 分钟（具体孵育时间可根据细胞类型及预实验结果调整）。
3. 孵育结束后，吸弃工作液，用预热的 PBS 缓冲液或无血清培养基轻轻冲洗细胞 2 - 3 次，每次 3 - 5 分钟，以去除未结合的染色剂。
4. 加入新鲜的无血清培养基或 PBS 缓冲液，即可在荧光显微镜下观察（激发波长约 577 nm，发射波长约 590 nm）。

(三) 悬浮细胞染色

1. 收集处于对数生长期的悬浮细胞，1000 rpm 离心 5 分钟，弃去上清。
2. 用预热的 PBS 缓冲液重悬细胞，1000 rpm 离心 5 分钟，弃去上清，重复洗涤 2 次。
3. 加入适量的 Gtracker Lyso Red 工作液重悬细胞，使细胞浓度适宜，置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中避光孵育 30 - 120 分钟。
4. 孵育结束后，1000 rpm 离心 5 分钟，弃去上清，用预热的 PBS 缓冲液或无血清培养基重悬细胞，1000 rpm 离心 5 分钟，弃去上清，重复洗涤 2 - 3 次。
5. 用新鲜的无血清培养基或 PBS 缓冲液重悬细胞，滴加到载玻片上，盖上盖玻片，在荧光显微镜下观察。

(四) 新鲜组织薄片染色

1. 取新鲜的组织样本，制备成厚度约 50 - 100 μ m 的组织薄片，用 PBS 缓冲液轻轻冲洗以去除血渍和杂质。



2. 将组织薄片放入培养皿中，加入适量的 Gtracker Lyso Red 工作液，确保工作液完全覆盖组织薄片，37℃、5% CO₂培养箱中避光孵育 60 - 180 分钟（具体时间根据组织类型调整）。
3. 孵育结束后，用 PBS 缓冲液轻轻冲洗组织薄片 3 次，每次 5 分钟。
4. 将组织薄片放在载玻片上，滴加少量 PBS 缓冲液，盖上盖玻片，在荧光显微镜下观察。

七、注意事项

1. **避光操作：**Gtracker Lyso Red 对光敏感，从试剂解冻、稀释到孵育整个过程均需避光操作，可使用铝箔包裹容器或在避光培养箱中进行孵育，避免荧光淬灭。
2. **储存条件：**储备液需避光保存于 -20℃ 冰箱，避免反复冻融。未开封的储备液有效期为 12 - 24 个月，开封后建议在 3 个月内使用完毕，每次使用后需及时密封放回冰箱。
3. **工作液配制：**工作液需现配现用，不可储存后再次使用，以保证染色效果。稀释时应使用无血清培养基、PBS 缓冲液或含钙镁离子的 HBSS 缓冲液，避免使用含血清的培养基。
4. **细胞状态：**用于染色的细胞应处于对数生长期，状态良好，以确保染色剂能有效被溶酶体摄取。若细胞状态不佳，可能导致染色效果差。
5. **清洗步骤：**染色后务必进行充分的清洗，去除未结合的染色剂，以降低背景荧光，提高成像质量。
6. **安全防护：**操作时需佩戴手套、口罩和实验服，避免染色剂直接接触皮肤、黏膜和眼睛。若不慎接触，应立即用大量清水冲洗。
7. **废弃处理：**使用后的染色剂废液及污染的耗材，需按照实验室生物废弃物处理规定进行处理，不可随意排放。
8. **预实验优化：**不同细胞系对染色剂的摄取效率存在差异，初次使用时，建议进行预实验，优化染色剂浓度和孵育时间，以获得最佳染色效果。