

Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1000X)

产品编号	产品名称	包装
C1443S	Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1000X)	50μl
C1443M	Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1000X)	250μl

产品简介:

- 碧云天的Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1000X) (Beyo3D™ Lyso-Tracker Red Staining Solution, 1000X), 是一种快速、便捷的用于3D培养的细胞球或类器官等的活细胞溶酶体染色的溶液。仅需染色10分钟就可在荧光显微镜下观察到非常明亮的活细胞溶酶体红色荧光染色。
- Lyso-Tracker Red是一种溶酶体(Lysosome)红色荧光探针, 能通透细胞膜, 可以用于活细胞溶酶体特异性荧光染色。
- Lyso-Tracker Red为采用Molecular Probes公司的DND-99进行了荧光标记的带有弱碱性的荧光探针, 其中仅弱碱可部分提供质子, 以维持pH在中性, 可以选择性地滞留在偏酸性的溶酶体中, 从而实现对于溶酶体的特异性荧光标记。中性红(Neutral Red)和吖啶橙(Acridine Orange)也都可以对溶酶体进行荧光染色, 但中性红和吖啶橙的染色缺乏特异性。Lyso-Tracker Red适用于活细胞溶酶体的荧光染色, 但不适合用于固定细胞溶酶体的荧光染色。
- Lyso-Tracker Red是嗜酸性荧光探针, 用于活细胞内酸性细胞器的标记和示踪。这些探针具有几个重要特征, 包括高度选择靶向酸性细胞器和在纳摩尔浓度有效标记活细胞。Lyso-Tracker Red必须在极低浓度(通常约50nM)下才能获得优异的选择性。这些探针的滞留(Retention)机制虽然没有被研究清楚, 但很可能与酸性细胞器的质子化和滞留性有关, Lyso-Tracker Red探针的内吞作用动力学研究显示染料进入活细胞的摄入时间仅几秒即可。然而, 这些溶酶体探针会导致溶酶体被碱化, 长期孵育会诱使溶酶体pH值的增加。因此, 建议成像前用探针孵育细胞的时间不能太久。Lyso-Tracker Red探针具体使用浓度和孵育时间需要根据自身实验条件和具体细胞种类来进行摸索以达到满意的染色效果。
- Lyso-Tracker Red的分子式为C₂₀H₂₄BF₂N₅O, 分子量为399.25, 最大激发波长为577nm, 最大发射波长为590nm。
- Lyso-Tracker Red适用于活细胞溶酶体的荧光染色, 但不适合用于固定细胞溶酶体的荧光染色。如果经Lyso-Tracker Red染色后的细胞需要进行固定操作, 可以尝试3%的戊二醛(Glutaraldehyde)。
- **本产品适用范围广。**本产品可用于各种方法培养出的3D细胞球或类器官, 包括超低吸附细胞培养板、Matrix-Gel™ 基质胶或Matrigel包被的平板、琼脂糖包被的平板、细胞悬滴培养板等。
- **本产品使用便捷, 整个检测过程仅需约10-30分钟即可完成。**对于常规的3D细胞活细胞染色, 仅需加入本产品避光孵育10分钟即可进行荧光检测。本产品对3D培养的HCT-116细胞的染色效果参考图1。

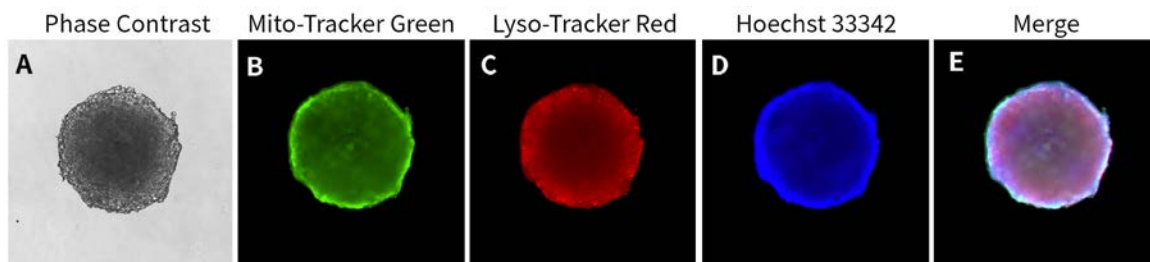


图1. 碧云天Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1000X) (C1443)对于3D培养的HCT-116细胞的染色效果图。5000个HCT-116细胞在使用碧云天3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板中培养72小时, 然后吸除培养液后直接加入Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1X)染色10分钟(图中各染料可混合配制后使用)。结果显示, Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液对于3D细胞染色效果清晰、明亮, Beyo3D™ Mito-Tracker Green染色液(1000X) (C1435)染色的线粒体呈现绿色荧光(图B), Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色的溶酶体呈现红色荧光(图C), Beyo3D™ Hoechst 33342染色液(C1345)染色的细胞核呈现蓝色荧光(图D), 绿色荧光、红色荧光及细胞核蓝色荧光的叠加(Merge)效果见图E。实际检测效果会因细胞株、实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 传统的细胞培养大多以二维(Two-dimensional, 2D)的形式展开, 但2D培养的细胞在生长方式、生长形态、分化和功能等方面都与体内生理条件下细胞的真实形态和结构存在明显差异, 可能会因为细胞结构和组织形态的缺失, 使实验结果的可信度降低[1-3]。三维(Three-dimensional, 3D)细胞培养能够更好地模拟体内细胞生存的微环境, 更能代表体内组织, 也能更真实的反映细胞与细胞间、细胞与基质间的相互作用, 细胞对外源性和内源性刺激的应答也更接近于它们在体内的反应, 3D细胞培养从而成为更有价值并更为可信的体外实验模型, 能够获得与体内实验更加一致的实验结果[4-5]。
- 3D肿瘤细胞模型越来越多地被用于了解疾病机制和药物研发。2D培养的肿瘤细胞, 其单侧细胞膜可以均匀地获得营养和氧气, 而

3D培养的肿瘤细胞团的内部细胞获得营养和氧气的机会更少，形成自然的营养和氧气梯度，能更好地模拟体内微环境条件，因此3D培养的肿瘤球状体(Spheroid)或肿瘤类器官(Organoid)等能更好地模拟体内肿瘤，更利于小分子药物筛选或者肿瘤相关分子机制的研究，也更能准确地预测药物治疗的体内反应、疗效或毒性。同时，2D肿瘤细胞模型体外扩增有一定局限性，在传代后容易丧失原肿瘤的遗传异质性，出现优势克隆选择性，从而降低临床相关性。相比于2D细胞模型，3D细胞球或者类器官很多情况下能提供更为可信的研究结果，简化并加速药物评价流程。自2009年小肠类器官首次建立至今，3D细胞和类器官研究已经扩展到很多组织系统，并成为生命科学最热门的领域之一。

➤ 按照96孔板每孔需0.1μl Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1000X)，本产品每50μl可以进行500个样品的检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C1443S	Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1000X)	50μl
C1443M	Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1000X)	250μl
—	说明书	1份

保存条件：

-20℃避光保存，半年有效。

注意事项：

- 细胞球在外力的作用下容易变形或分散，PBS洗涤及换液等过程须轻缓，避免破坏或吹散3D细胞球。
- Lyso-Tracker Red在4℃、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管管底、管壁或管盖内，可以20-25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。对于微量的液体，每次使用前先离心数秒钟，使液体充分沉降到管底。
- Lyso-Tracker Red适用于活细胞溶酶体荧光染色，但不适合用于固定细胞溶酶体的荧光染色。如果经Lyso-Tracker Red染色后的细胞需要进行固定操作，可以尝试3%的戊二醛(glutaraldehyde)。
- 本产品浓度经过碧云天的优化，确保可以满足活细胞染色及各种常规染色的需要。如需使用特定浓度的Lyso-Tracker Red，请选购碧云天的Lyso-Tracker Red (溶酶体红色荧光探针) (C1046)。
- 荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽量当天完成检测。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

本步骤以96孔板，每孔接种100μl细胞为例，如使用其它类型的多孔板，各试剂使用量请按照相应比例进行换算。

1. 3D细胞的准备。

在96孔3D培养板中每孔接种100μl细胞，细胞的接种量根据具体的实验方案，例如培养天数、需要的3D细胞球状体的大小等确定，按照3D细胞培养方案培养细胞，并按照实验设计进行一定的处理。96孔3D培养板推荐使用碧云天的3D细胞培养板包被液(C0365)、3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板，或直接使用BeyoGold™ 超低吸附96孔板(FULA962/FULA961)、BeyoGold™ 超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖，独立包装) (FULA965)等。

注：为达到最佳的使用效果，具体细胞球培养时间、药物等干预时间可以根据细胞种类、具体的实验需求等进行调整。例如，对于HCT-116细胞，通常接种培养48小时形成较为紧实的细胞球后进行干预染色效果较好。

2. 3D细胞Lyso-Tracker Red染色。

- a. Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1X)的配制：如下表所示，按照96孔板每孔需要100μl Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1X)的量，用PBS稀释配制适量的Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1X)。PBS推荐使用PBS (C0221A)。

Sample number	10 samples	50 samples	100 samples
PBS	1ml	5ml	10ml
Beyo3D™ Lyso-Tracker Red Staining Solution (1000X)	1μl	5μl	10μl
Total volume	~1ml	~5ml	~10ml

注1：配制好的Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1X)必须一次使用完毕，不能冻存。

注2：Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色工作液中的Lyso-Tracker Red的最终浓度可以根据不同细胞系和实验体系通过预实验进行优化。Lyso-Tracker Red的工作浓度通常为0.5-2X，推荐使用浓度为1X。

- b. 小心去除原有细胞培养液。每孔加入100μl Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1X)，在适宜于细胞培养的温度避光孵育10分钟。

注1：为达到最佳的染色效果，具体染色时间可以根据细胞种类、培养天数、细胞球状大小等进行调整。

注2：任何液体吸除或加入的过程须轻缓，避免破坏或吹散3D细胞球。3D细胞球通常沉浮在培养板或培养皿等培养器的底部，培养板在对着光线时能看到孔内针尖大小的乳白色细胞球，吸除孔内液体时须尽量避开细胞球以免将细胞球吸走。可以根据孔内液体的体积将移液器调至合适的量程，例如需要吸除的液体体积为100μl，将200微升移液器的量程调整到50-70微升，避开细胞球从液体边缘缓慢、分次吸除。孔内加入液体时，沿着孔壁小心、缓慢加入，避免破坏或吹散3D细胞球。

3. 荧光拍摄。

注：任何液体吸除或加入的过程须轻缓，避免破坏或吹散3D细胞球。

Łożyńska M, Koler

- Łożyńska M, Koler

Łożyńska M, Koler

Łożyńska M, Koler

C1455S	Beyo3D™ ER-Tracker Green染色试剂盒	50次
P0121	BeyoCUBIC™ 3D细胞透明化试剂盒	5/25ml
FULA061	BeyoGold™超低吸附6孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA122	BeyoGold™超低吸附12孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA243	BeyoGold™超低吸附24孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA485	BeyoGold™超低吸附48孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA961	BeyoGold™超低吸附96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA962	BeyoGold™超低吸附96孔板(圆底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA965	BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA981	BeyoGold™超低吸附384孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA985	BeyoGold™超低吸附黑色透明底384孔板 (平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA035-10pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋
FULA035-40pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA060-10pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋
FULA060-40pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA100-10pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋
FULA100-40pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱

Version 2025.03.25