

Färbung lebender Zellen mit dem fluoreszierenden Nukleinsäurefärbemittel **LUCS® 13**

LUCS® 13 ist ein durchlässiges Nukleinsäurefärbemittel, das grüne Fluoreszenz zeigt, wenn es an Nukleinsäuren bindet. Das Färbemittel weist eine hohe fluoreszierende Ausbeute auf und hat eine Struktur, die identisch mit dem SYTO™ 13-Färbemittel ist.

LUCS® 13 wird verwendet, um sowohl DNA als auch RNA in lebenden und toten Eukaryoten sowie grampositiven und gramnegativen Bakterien zu färben. Der Farbstoff wird durch den blauen Laser bei 488 nm angeregt. Seine Fluoreszenzemission wird im Fluoresceinkanal mit einem Maximum bei 509 nm beim Binden an DNA und 514 nm beim Binden an RNA detektiert.

Der Farbstoff kann zusammen mit nicht durchlässigen Kernmarkern wie [YoDi-3](#) zur Bewertung der Zellviabilität mittels Fluoreszenzmikroskopie und Durchflussszytometrie verwendet werden.

Protokoll

Das genaue Protokoll hängt von der spezifischen Zellart und der experimentellen Aufgabe ab. Im Allgemeinen kann es wie folgt beschrieben werden:

1. Bereiten Sie eine 50 µM-Stammlösung von LUCS® 13 vor. Dazu fügen Sie 990 µl deionisiertes Wasser zu 10 µl einer 5 mM-Lösung von LUCS® 13 hinzu. Die Stammlösung kann aliquotiert und für die langfristige Lagerung eingefroren werden.
2. Um eine Arbeitslösung von 1 µM LUCS® 13 herzustellen, fügen Sie 20 µl der 50 µM-LUCS® 13-Stammlösung zu 980 µl PBS hinzu.
3. Entfernen Sie die adhärennten Zellen in geeigneter Weise von der Oberfläche des Kulturgefäßes. Bei Suspensionssuspensionen mit dem nächsten Punkt beginnen.
4. Waschen Sie die Zellen einmal mit kaltem PBS (pH 7,4). Sedieren Sie die Zellen durch Zentrifugation für 5 min bei 300 g.
5. Inkubieren Sie die Zellen in 1 ml 1 µM LUCS® 13-Arbeitslösung für 30 min bei 37 °C.
6. Entfernen Sie die Farbstofflösung durch Zentrifugation für 5 min bei 300 g.
7. Waschen Sie die Zellen einmal mit PBS.
8. *(Optional)* Falls erforderlich, können die Zellen für 15 min in 3,7% Formaldehydlösung in PBS fixiert, mit PBS gewaschen und mit einem anderen Farbstoff nachgefärbt werden.

Wichtig

- Verwenden Sie Kunststoffgefäße beim Umgang mit LUCS® 13-Lösungen, da sich der verdünnte Farbstoff am Glas festsetzen kann.

- Die beste Färbungsergebnisse werden mit phosphatfreien Puffern (z.B. 15 mM HEPES in Kochsalzlösung) erzielt.
- Testen Sie vor Beginn des Experiments mehrere Farbstoffkonzentrationen im Bereich von 10 nM bis 5 μ M, um die optimale Verdünnung des Farbstoffs zu bestimmen. Das Färbeergebnis wird von vielen Faktoren beeinflusst: Wachstumsmedium, Zelldichte, Anwesenheit anderer Zelltypen, Färbungsdauer usw.

SYTO[®] ist eine registrierte Handelsmarke von Molecular Probes Inc.

Lumiprobe Corporation

201 International Circle, Suite 135
Hunt Valley, Maryland 21030
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