

溶酶体检测

1.准备

1.1 每个共聚焦皿大约添加1-2 mL含血清培养液，此时细胞密度约为 5×10^4 /mL

1.2 用37°C预热的无血清培养基稀释Lysotracker至50 nM

2.洗涤

2.1 37°C预热的无血清培养基洗涤2次

3.染色

3.1 在洗涤后的共聚焦皿中加入1 mL Lysotracker工作液，37°C细胞培养箱中孵育30 min

4.洗涤

4.1 37°C预热的无血清培养基洗涤 3×5 min

5.检测

5.1 激光共聚焦显微镜或者荧光显微镜进行观察

常见问题解析

1. LysoTracker荧光信号低怎么办？

①评估细胞状态：确保使用的实验细胞为存活状态；确保细胞密度足够；
②评估探针质量：避免LysoTracker储存液反复冻融，建议适量分装；
LysoTracker工作液应现配现用，且注意避光；③优化实验条件：适当增加染料的浓度或者延长孵育时间；若背景信号低，可减少洗涤次数；④染色后及时观察实验结果；⑤选择恰当的荧光通道，必要时查询荧光光谱网站。

2. LysoTracker荧光信号淬灭怎么办？

①LysoTracker属于荧光染料，荧光染料在光线照射下均会存在淬灭问题，因此染色及成像过程必须注意避光；②对于荧光样本，荧光显微镜或激光共聚焦显微镜均具有光毒性，因此建议保证成像质量的前提下，降低激光强度；或者使用光毒性相对较低的荧光显微镜进行拍摄；③染色后及时成像观察。

3. 背景荧光信号过高怎么办？

①增加染色后洗涤次数；②选择发射波长较长的LysoTracker染料。

4. LysoTracker染色标记了细胞内其他细胞器怎么办？

①LysoTracker作为一种弱碱性荧光染料，在酸性细胞器中不具备特异性，能够标记活细胞内除溶酶体以外的细胞器，因此建议减低LysoTracker工作液浓度，或缩短其孵育时间，以提高溶酶体标记特异性；②检查显微镜荧光通道是否与LysoTracker荧光基团匹配，常见于溶酶体与线粒体共标时，二者荧光基团选择不当导致串色，建议更换染料。

参考文献

- [1]Yang Q. Decoding extracellular matrix-lysosome cross-talk and its implications for neurodegenerative diseases. *Sci Signal*. 2025, 18(890): eadt1936.
- [2]Zhang R. Key Mechanisms in Lysosome Stability, Degradation and Repair. *Mol Cell Biol*. 2025, 45(5):212-224.