

产品说明书

产品名称: DiOC2(3) (3, 3'-Diethyloxacarbocyanine Iodide)

产品货号: BN14027

产品规格: 20 mg

应用范围: 膜电位染色

产品参数

外观: 可溶于 DMSO 或 DMF 的橘红色固体

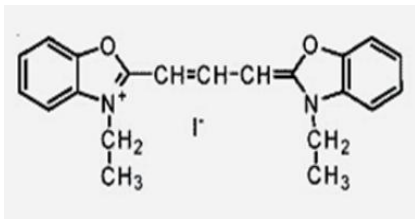
$\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ (MeOH) = 482/497 nm

CAS 号: 905-96-4

分子式: $C_{21}H_{21}IN_2O_2$

分子量: 460.31

分子结构图:



贮存条件

-20℃ 避光保存, 保质期一年。

产品介绍

DiOC2(3) (3,3'-Diethyloxacarbocyanine, 碘化物)是一种广泛应用的膜电位探针。如用于线粒体膜电位的研究, DiOC2(3) 能够穿透真核细胞的细胞质, 在浓度低于 100 nM 时, 染料在具有活跃膜电位的线粒体中积累, 形成红色荧光聚集体, 当使用破坏线粒体膜电位的 (如 CCCP) 处理细胞时, DiOC2(3) 染色强度降低。

DiOC2(3) 染色的细胞可以通过流式细胞仪的蓝色激发, 绿色和红色发射可视化。该试剂可与其他试剂搭配使用, 例如红色激发的 Annexin V-APC, 用于活力和凋亡的研究。

使用方法 (线粒体膜电位检测)

DiOC2(3) 标记细胞

由于细胞类型、培养条件的差异以及应用方向的不同, 建议起始浓度 50 nM 摸索最佳染色条件。

将 DiOC2(3) 溶于无水 DMSO 配制成 100 mM 的储液: 向管中加入 435 μ L 的无水 DMSO, 充分溶解。每次实验前, 需将储液充分涡旋混匀。

开始实验前, 将 DiOC2(3) 和 CCCP 恢复至室温。

1.1 用预热的培养基、磷酸盐缓冲液或其他缓冲液重悬细胞, 使细胞最终密度为 1×10^6 个/mL。

1.2 设置对照, 向管中加入 1 μ L CCCP 溶液至终浓度为 50 μ M, 37℃ 孵育 5 min。

注: CCCP 可以和 DiOC2(3) 同时添加。为了获得不同细胞类型的最佳效果, 可能需要滴定 CCCP。

1.3 配置合适浓度的 DiOC2(3) 工作液, 加入工作液至终浓度为 50 nM, 37℃ 孵育 15-30 min。如果进行其他标记, 如用 Annexin V 结合物标记, 请执行步骤 2.1; 如果不需要其他染色, 请继续执行以下步骤。

1.4 (可选) 清洗细胞一次, 向每个细胞管中加入适量预热的 PBS 缓冲液。

1.5 1000 rpm 离心 5 min

1.6 向每个管中加入 500 μ L PBS 缓冲液, 轻弹管壁使其重悬。

1.7 使用 YF488 染料的发射滤光片在 488 nm 激发下进行流式分析。用 CCCP 处理的样品调节补偿。

Annexin V 结合物额外标记

可以用额外的标记方法检测 DiOC2(3) 染色后细胞的凋亡及生存状态。如用 Annexin V-APC 标记:

2.1 向步骤 1.3 的细胞中加入适量预热的 PBS 缓冲液洗涤细胞一次。

2.2 1000 rpm 离心 5 min, 然后重悬于 100 μ L 1 \times Annexin 结合缓冲液中。

2.3 加入 5 μ L Annexin V 结合物 (如 Annexin V-APC)。

2.4 37°C 孵育 15 min。

2.5 加入 400 μ L Annexin 结合缓冲液。

2.6 用适合于 YF488/PI 和 YF633 染料的发射滤光片在 488 nm 和 633 nm 激发下进行流式分析。

注意事项

1. 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。

2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。