

DiOC2(3) 膜电位荧光探针

Cat NO：IMFP-I004

产品简介

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。

产品优势

腔肠素应用非常广泛，包括：1、腔肠素常用作基于荧光分析的报告基因检测以及活体动物检测的发光底物。 2、检测细胞/组织内活性氧（ROS）水平：腔肠素能在酶非依赖性的氧化体系中自发荧光，细胞和组织内的超氧阴离子和过氧化亚硝基阴离子能够增强该自发荧光信号，从而检测活性氧水平。 3、腔肠素非常适用于检测活细胞内钙离子水平，腔肠素作为水母发光蛋白复合物（Aequorin）的组成成分，当复合物与钙离子（Ca²⁺）结合后，腔肠素能被氧化生成高能量产物 Coelenteramide，同时释放出 CO₂ 和蓝色荧光（466nm）。4. Renilla 荧光素酶和底物 coelenterazine 被用作生物发光共振能量转移(BRET)中检测蛋白质-蛋白质相互作用的生物发光供体。

产品信息

表 1.组成信息

产品名称	产品规格	储存条件	保质期
DiOC2(3) 膜电位荧光探针	20mg	-20℃	12 个月

使用说明

1.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 50nM 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 20mg 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) 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。

(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°C 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。

(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°C 孵育 15-30min。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。

(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。

(5) 1000 rpm 离心 5 min。

(6) 向每个管中加入 500 μ L PBS 缓冲液，轻弹管壁使其重悬。

(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。

2. 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：

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

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

(4) 37°C 孵育 15 min。

(5) 加入 400 μ L Annexin 结合缓冲液。

(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、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。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 3、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。