

## 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 μL 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  $1 \times 10^6$  个/mL。

(2) 设置对照, 向管中加入 1 μL CCCP 溶液至终浓度为 50 μM, 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。

(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 15-30min。



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  $\mu$ 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  $\mu$ L 1 $\times$  Annexin 结合缓冲液中。

(3) 加入 5  $\mu$ L Annexin V 结合物（如 Annexin V-APC）。

(4) 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min。

(5) 加入 400  $\mu$ 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。

