

Dihydrorhodamine 123

1. 产品描述

Dihydrorhodamine 123 (二氢罗丹明 123, DHR 123) 是罗丹明 123 的还原形式, 是一种常用的荧光线粒体染料。二氢罗丹明 123 本身是不发荧光的, 它能够很容易穿透细胞膜进入细胞, 并被细胞内的氧化性物质或氧化还原系统氧化成可发荧光的罗丹明 123, 后者聚集在线粒体膜上, 发射亮绿色荧光 (Ex/Em=500/536 nm)。单一的一氧化氮 (NO), 超氧化物, 或过氧化氢 (H₂O₂) 不能氧化二氢罗丹明 123, 但是, 当这些活性氧物质与其他细胞组分比如细胞色素 c 氧化酶或 Fe²⁺ 联合起来能够氧化 DHR 123 生成罗丹明 123。荧光信号可以通过荧光计, 流式细胞仪或荧光显微镜检测。

二氢罗丹明 123 可用于检测活性氧 (ROS), 包括超氧化物 (在过氧化物酶或细胞色素 c 存在下) 和过氧亚硝酸盐。二氢罗丹明 123 广泛地用于多种细胞, 例如人中性粒细胞、肺肿瘤 SPC-A-1 细胞、内皮细胞、HaCaT 细胞、嗜酸性细胞、鼠肥大细胞、几内亚猪中性粒细胞、软骨细胞、鼠近端肾小管细胞等。

2. 产品信息

货号	产品名称	规格
C5313	Dihydrorhodamine 123	1mg/5mg/10mg/25mg

3. 使用方法

(1) 工作液配制

1) 储存液配制: 产品以粉末形式提供, 开盖前需要经过瞬时离心。如果产品是从冰箱中取出则需要先置于室温进行回温。取 1.7mg Dihydrorhodamine 123 粉末用 982 μ L DMSO 溶解配制浓度为 5 mM 的储存液 (1000 \times)。储存液配置的浓度可以根据实验需求进行调整。使用者需要根据单次用量将溶液分装成小量储存于 -20 $^{\circ}$ C, 避免反复冻融, 注意避光。

2) 工作液配制: 用缓冲液或者预热的培养液直接稀释储存液到需要的工作液浓度 (5 μ M), 充分混匀。具体的工作液浓度要根据实验需求进行调整和配置。

【注意】: 实验过程中控制好总体稀释倍数, DMSO 在培养液中的浓度不能超过 0.1%, 以避免 DMSO 对细胞的影响。

(2) 贴壁细胞染色

- 1) 选择合适细胞密度接种贴壁细胞, 过夜培养。
- 2) 可以选择感兴趣的药物干预细胞, 继续培养一定时间。
- 3) 吸去细胞培养液, 加入 DHR 123 工作液进行染色。
- 4) 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱孵育 15-60 分钟。
- 5) 吸去染色液, 用 PBS 洗涤细胞, 用荧光显微镜观察。

(3) 悬浮细胞染色

- 1) 培养足够量的悬浮细胞 (1×10^6 个细胞/ mL)。
- 2) 如果要进行药物刺激, 在细胞中加入感兴趣的药物进行干预, 继续培养一定时间。
- 3) 离心收集并用 PBS 洗涤细胞。
- 4) 加入 DHR 123 工作液重悬细胞, 37°C 避光孵育 15 min 或更长时间。注意: 由于细胞种类和实验体系不同, DHR 123 工作液浓度和孵育时间可以根据预实验或参考文献自行调整。
- 5) 用流式细胞仪检测。也可以取细胞悬液制成玻片形式在荧光显微镜下检测。