

线粒体膜电位荧光探针--罗丹明 123 C0011

描述:线粒体膜电位荧光探针罗丹明 123 (Rh123) 是一种可对活细胞线粒体染色的荧光染料, 分子式: $C_{21}H_{17}ClN_2O_3$, 分子量: 380.8243, 为红色至棕色粉末。Rh123 可以快速通过细胞膜, 仅需几分钟就可以被具有活性的线粒体俘获, 选择性地聚集在线粒体内, 呈黄绿色荧光。对细胞没有任何毒性。Rh123 广泛用作检测线粒体膜电位, 也常用于细胞凋亡检测。

规格: (100 次, 50 次减半)

罗丹明 123 荧光探针浓缩液 (1mM) 100ul

储存: -20℃ 避光保存, 一年有效

波长: 最大激发波长为 507nm, 最大发射波长为 529nm。可以使用激发波长 511nm, 发射波长 535nm 或激发波长 488~505nm, 发射波长 530nm

操作步骤:

罗丹明 123 荧光探针工作液配制:

用无酚红、不含血清的新鲜培养基稀释罗丹明 123 荧光探针浓缩液 (1mM) 至 1~20uM, 最佳工作浓度建议预实验确定。

一般情况下, 96 孔板单孔细胞样本 50ul 工作液足够检测, 6 孔板单孔 0.5ml 工作液足够检测。

悬浮细胞:

1. 离心收集细胞, 弃上清, 用 PBS 洗涤两次。
2. 按比例将 Rh123 工作液加入细胞, 37℃ 孵育 30 分钟至 1 小时。
3. 离心, 去除 Rh123 缓冲液, 用新鲜培养基洗涤细胞。
4. 加入 4% 组织细胞固定液 (货号 B1057) 固定 15~20 分钟, 用 PBS 洗涤。
5. 用荧光显微镜观察。

贴壁细胞:

1. 用载玻片准备细胞爬片, 细胞数目应为 $5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5$ 个/mL 或消化收集细胞后,
2. 孵育该载玻片, 细胞贴壁后用 PBS 或 Hank's 液洗涤细胞。
3. 将 Rh123 工作液加至附有细胞的载玻片上, 37℃ 孵育 30 分钟至 1 小时。
4. 去除 Rh123 缓冲液, 并用培养基洗涤细胞。
5. 加入 10% 福尔马林缓冲液固定 15~20 分钟, 用 PBS 洗涤。
6. 荧光显微镜观察细胞。

也可以消化收集细胞后参照悬浮细胞处理方式进行膜电位检测。

结果: 正常细胞线粒体呈黄绿色荧光; 凋亡细胞荧光强度减弱或消失。

说明

1. 操作时需戴手套。
2. 罗丹明 123 为通透性染料, 可以自由进入细胞。
3. 孵育时, 必须避免光照。
4. 染色完成后, 即可进行荧光检测分析。