

Ready-to-use DRAQ5 活细胞 DNA 染料

1 产品基本信息

产品名称 (中文): Ready-to-use DRAQ5 活细胞 DNA 染料

产品名称 (英文): Ready-to-use DRAQ5 Live Cell DNA Dye

产品编号: MX1501

2 规格或纯度

20 μ L, 50 μ L, 200 μ L

3 产品介绍

产品简介:

Draq5 是一种远红外亲脂性且具有膜透性的 DNA 染料, 可用于活细胞或固定后死细胞的细胞核染色。由于其出色的激发和发射波段范围 (488 nm 至 647 nm 均可被激发, 发射区域均为远红外区域), Draq5 常用于与其他染料联合使用进行多通路检测, 举例: Hoechst 和 DAPI 是最常用的蓝色荧光探针, 激发波段为紫外, 这两种染料就限制使用者不能与其他紫外激发或者显蓝色的荧光染料在同一试验中使用, 而非蓝色细胞核探针的 Draq5 则可以完美替换 Hoechst 及 DAPI 弥补这一劣势。另外, 常有使用者需要测定融合表达 GFP 荧光蛋白细胞的增殖情况, Draq5 可以担此重任, 复染核去测定该类细胞的 DNA 含量。

Draq5 可用于细胞周期中 DNA 含量的分析, 相较于 PI 进行细胞周期检测, 无需 RNase 处理 (Draq5 特异性结合 DNA 而不结合 RNA), 无需破膜处理 (Draq5 为膜透性染料), 无需洗涤步骤, 为实验者省时省事。

产品特点:

- 方便: Draq5 以易用的 5mM 液体形式提供;
- 适合多色搭配: 因其广谱的激发波段及远红外发射波段, 特别适合多色搭配;
- 细胞成像: Draq5 为膜透性细胞核染料, 用于活细胞成像以及核酸含量测定。

适用范围:

活细胞成像、细胞周期

产品参数

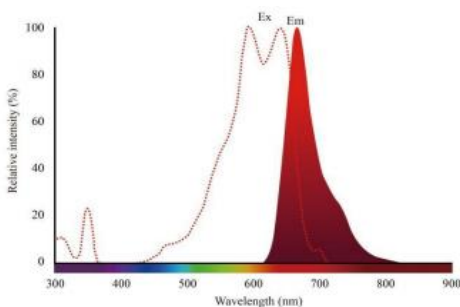
CAS 号: 254098-36-7

Ex/Em: 594/666 nm

分子式: $C_{22}H_{28}N_4O_4$

分子量: 412.5

光谱图:



4 储存与运输

储存条件: 4 $^{\circ}$ C 避光保存

运输条件: 冰袋运输

5 使用方法 (仅供参考)

1. 准备不含有叠氮化钠的 PBS 缓冲液或特定细胞的特定培养基。用 PBS 或培养基重悬细胞，控制细胞密度 $\leq 4 \times 10^5$ 个/mL。针对贴壁细胞或者组织则大致预估细胞数量。
2. 根据表 1 稀释 Draq5 荧光染色液。Draq5 染色液可以直接添加到贴壁细胞或组织切片表面，亦可直接添加到新鲜培养基中。

注：1) 不同细胞种类所需 Draq5 的染色浓度可能不同，初期最好进行细胞染色的预实验工作，设置不同 Draq5 染色浓度梯度确定最佳染色浓度。

2) 当实验需要连续监测，如 EGFP 标记蛋白的易位实验时，Draq5 染色液需要在加入任何激动剂/拮抗剂前（通常是 0.5-3 h）以 1 μ M 浓度加入。

3. 轻柔混匀，室温孵育 5-30 min，37°C 孵育可将时间缩短到 1-3 min。孵育完成后无需清洗步骤，直接观察即可。

注：1) 若在 Draq5 染色前，样品已经被其他荧光探针标记，注意上述实验避光操作。

2) 标记实验中因 Draq5 染色不需要额外清洗的步骤，故常在最后一步加入。

检测相关

1. 流式细胞术：在 488 nm 处激发这种染料时，可使用 685 LP 二向分色镜和 710/50 通道进行检测；在 633 nm 处激发时，可以使用 660/20 通道进行检测。对于细胞周期/DNA 分析应用，建议使用波长较长的滤光片，例如 735 LP 二向分色镜和 780/60 通道来优化 G1 和 G2/M 峰的 CV 值。
2. 成像显微术：建议使用 633 nm 或 647 nm 的光源进行激发。

表 1 细胞数目及所需 Draq 5 体积及终浓度

细胞样品准备		Draq 5 加入的体积及终浓度		
细胞数目	PBS 或培养基体积	5 μ M	10 μ M	20 μ M
1×10^6	2500 μ L	2.5 μ L	5 μ L	10 μ L
4×10^5	1000 μ L	1 μ L	2 μ L	4 μ L
2×10^5	500 μ L	0.5 μ L	1 μ L	2 μ L
1×10^5	250 μ L	0.25 μ L	0.5 μ L	1 μ L
5×10^4	125 μ L	0.13 μ L	0.25 μ L	0.5 μ L

6 常见问题

Q1：Draq5 储液是否含 DMSO？

答：该品为水溶液形式，不含 DMSO。

Q2：用 Draq5 对小鼠细胞进行 2-3 h 的活细胞成像。在对 Draq5 染色的细胞成像多久之后，在细胞毒性产生并使细胞死亡之前可以停止成像？

答：使用说明中有相应描述“Draq5 染色在 37°C 下加速，孵育时间（5-30 min）可能会缩短”，但这应该通过滴定和每种细胞类型进行分别测定。在未添加任何激动剂/拮抗剂之前，可以在 1 μ M 的检测持续时间（通常为 0.5 - 3 h）将 Draq5 添加到检测培养基中。Draq5 染色发生得非常快，因此建议在分析前将 Draq5 添加到活细胞中。细胞的孵育时间不应超过 3 h，但可能会因细胞系而异。

Q3：使用 Draq5 对上皮癌细胞的细胞核进行染色，发现荧光随着时间的推移变得越来越强。这种影响在激光功率较高和受热时发生得更强烈。这可能是什么原因呢？随着时间的推移，越来越多的染料与细胞核的 DNA 结合吗？它是否仅在与核 DNA 反应时发出荧光？是否知道染料在细胞凋亡过程中的行为。当染料变少时，染料能否与细胞核的 DNA 结合得一样好？

答：可以确认 Draq5 染色在较高温度下增强，因此可能需要调整孵育期。孵育期越长，我们预期的信号就越多，直到 DNA 饱和。如果 Draq5 随后被清洗，我们预计染色会随着时间的推移而缓慢下降。

除非 Draq5 与 dsDNA 结合，否则它几乎不会发出荧光。只有当它嵌入 dsDNA 中时，它才会产生强烈的荧光信号。Draq5 染色在细胞凋亡中不受影响，因为 Draq5 对 dsDNA 的亲合力在活细胞或死细胞中没有差异。随着细胞凋亡中 dsDNA 的数量发生变化，Draq5 信号的强度也会随着 dsDNA 的变化而变化。

Q4：正在进行 18 h 的细胞成像实验。在 12 h 后将 Draq5 培养基更换为不含 Draq5 的培养基时，染色强度会下降。1) 是否需要始终将 Draq5 保存在培养基中，即使可能会有毒性影响？2) 如果从培养基中去除 Draq5，染色会持续多长时间？

答：1) 我们预计细胞染色在培养基更换后会减少。尽管 Draq5 对 dsDNA 具有高亲和力，但仍存在平衡，去除培养基中的低残留浓度会破坏这种平衡。

2) 我们认为染色在去除后可能会持续 1-2 h，但这可能取决于细胞暴露于的先前使用的浓度。因为如果有任何毒性证据，人们会希望保持较低的浓度（可能是 0.5-1 μM ）。可以肯定的是，Draq5 是否会产生毒性影响完全取决于细胞系和状态。根据文献报道可以合理地预测，未处于增殖状态的细胞对任何细胞通透性 DNA 嵌入探针的敏感性较低。例如，它可能更有可能适用于巨噬细胞或人脐静脉内皮细胞等终末分化细胞类型，其中它和密切相关的 CyTRAK Orange 已在长期实验中得到证明。如果使用的细胞系在使用时没有毒性表现，那么我们可以在 Draq5 存在的条件下持续进行 18 h 的实验。

7 注意事项

- Draq5 属于远红外荧光，肉眼不可见，需要 CCD 相机或激光共聚焦观察。
- 由于 Draq5 发射和激发波长范围很宽，不建议将 Draq5 与其他可被 488 nm 或 633 nm 激光激发的远红光荧光染料联用。
- 荧光染料均存在淬灭问题，实验操作时请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
- 本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。