Lumiprobe Corporation
201 International Circle, Suite 135
Hunt Valley, Maryland 21030
USA
Tel.: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
E-Mail: order@lumiprobe.com

H2DCFDA (2',7'-Dichlorodihydrofluorescein-diacetat)

http://de.lumiprobe.com/p/h2dcfda

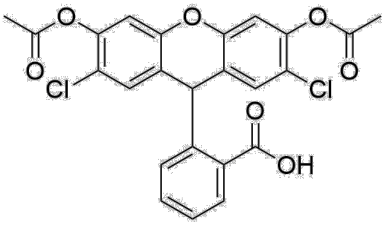
H_2DCFDA (2’,7’-Dichlorodihydrofluorescein-diacetat) ist ein sehr gebräuchliches Reagenz zur Untersuchung der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies in lebenden Zellen.

Bei H_2DCFDA handelt es sich um ein nicht fluoreszierendes Fluoresceinderivat, nämlich seine reduzierte acetylierte Form. Das Reagenz beginnt erst nach Abspaltung von Acetylgruppen und Oxidation in der Zelle zu fluoreszieren und wird zu 2′, 7′-Dichlorfluorescein. Es zeichnet sich durch helle Fluoreszenz im grünen Bereich des Spektrums aus (Absorptionsmaximum bei 492–495 nm, Fluoreszenzmaximum bei 517–527 nm). Dieses Reagenz eignet sich ausschließlich für Untersuchungen an lebenden Zellen und nicht an fixierten Proben.

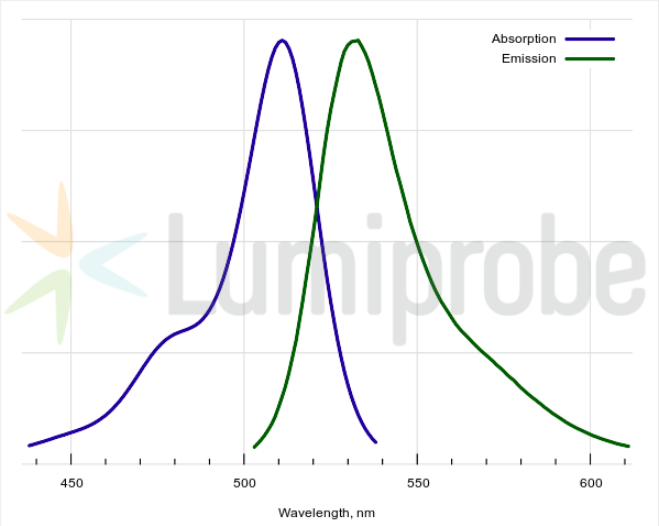
Acetylgruppen in der Struktur von H_2DCFDA erhöhen dessen Lipophilie und verbessern die Membrangängigkeit. Im Inneren der Zelle wird das Reagenz durch zelluläre Esterasen deacetyliert, wodurch es eine Ladung bekommt und besser in der Zelle zurückgehalten wird. Die Oxidation mit reaktiven Sauerstoffspezies führt zur Bildung eines fluoreszierenden Produkts, 2’,7’-Dichlorfluorescein, und kann mit verschiedenen Methoden nachgewiesen werden, beispielsweise mittels Durchflusszytometer, Plattenlesegerät oder Fluoreszenzmikroskop.

Anwendungsempfehlungen:

- Setzen Sie die Lösung immer frisch an. Die Arbeitslösung oxidiert allmählich und kann daher nicht lange gelagert werden.
- Eine optimale Arbeitskonzentration des Reagenzes und die erforderliche Inkubationszeit für die Deacetylierung und Oxidation müssen für die jeweilige Zelllinie und die Reaktionsbedingungen bestimmt werden. Sofern es für die verwendete Zelllinie keine empfohlenen Protokolle gibt, beginnen Sie mit einer Konzentration im Bereich von 1-10 µM und einer Inkubationszeit von 30 Minuten.
- Inkubieren Sie den Farbstoff nicht mit den Zellen in Gegenwart von Serum, da es Enzyme enthält, die H_2DCFDA abbauen.



Struktur von H2DCFDA (2',7'-Dichlordihydrofluoresceindiacetat)



Absorptions- und Emissionsspektren von H2DCFDA

Allgemeine Eigenschaften

Erscheinungsform:	farbloser Feststoff
Molekülmasse:	487.29
CAS-Nummer:	4091-99-0
Molekülformel:	$C_{24}H_{16}Cl_2O_7$

IUPAC-Name:	2-(3,6-diacetyloxy-2,7-dichloro-9H-xanthen-9-yl)benzoic acid
Löslichkeit:	
Qualitätskontrolle:	NMR ^{1}H, HPLC-MS (95%)
Lagerungsbedingungen:	12 Monate nach Wareneingang bei -20°C lichtgeschützt. Transport: bis zu 3 Wochen bei Raumtemperatur. Trocken lagern. Längere Lichteinwirkung und wiederholte Frier-Tau-Zyklen vermeiden. Es wird empfohlen, das Reagenz bei mehrmaliger Verwendung unter einer Atmosphäre aus getrocknetem Argon oder Stickstoff zu lagern.

Spektrale Eigenschaften

Anregungs-/Absorptionsmaximum / nm:	511
ε / L·mol^{-1}·cm^{-1}:	118626
Emissionsmaximum / nm:	533
Fluoreszenz-Quantenausbeute:	0.76
CF_{260}:	0.17
CF_{280}:	0.14