

Neue Autophagie Erkennung

Autophagosom Erkennung

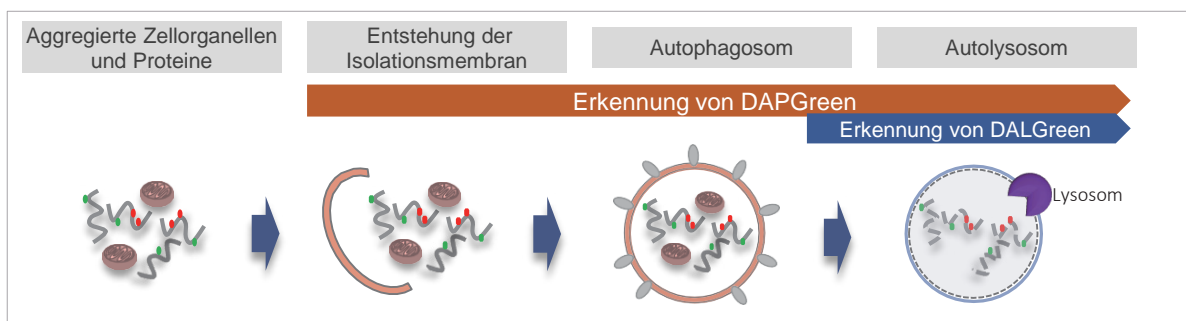
DAPGreen - Autophagy Detection

Autolysosom Erkennung

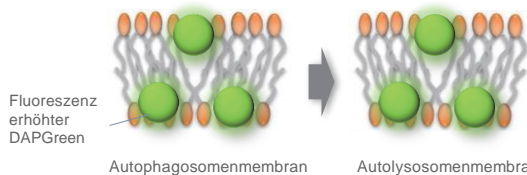
DALGreen - Autophagy Detection

Reaktionsprinzip

Das Autophagie-Detektionsreagenz "DAPGreen" emittiert Fluoreszenz, wenn es in eine Autophagosomenmembran aufgenommen wird, wohingegen DALGreen bei der Autolysosom-Phase Fluoreszenz emittiert, wenn aggregierte Proteine zersetzt werden. Das ermöglicht Ihnen mit diesen Reagenzien DAPGreen und DALGreen in verschiedenen Phasen der Autophagie zu überwachen: von der Entstehung von Autophagosomen bis zur Fusion mit Lysosomen und der Zersetzung von Komponenten, indem Sie einfach Reagenzien hinzufügen.

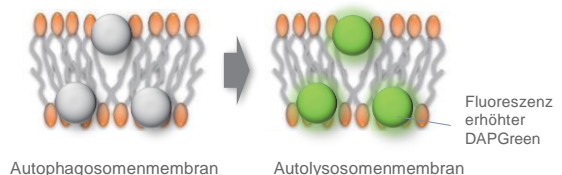


Autophagosom-Detektionsreagenz DAPGreen



Wenn eine Autophagosomenmembran entsteht, wird DAP Green in die Membran aufgenommen. Sodann wird die Fluoreszenz von aufgenommenem DAP Green unter lipophilen Bedingungen erhöht. Die Analyse von DAPGreen zeigt auch eine hohe Korrelation mit der von LC3, einem bekannten Autophagie-Marker. Details entnehmen Sie bitte den experimentellen Daten von DAPGreen (siehe Seite 3).

Autolysosom-Detektionsreagenz DALGreen



DALGreen wird bei der Entstehung der Autophagosomenmembran in gleicher Weise wie DAPGreen in die Membran aufgenommen. Nach der Fusion von Autophagosom mit Lysosom, erhöht sich unter sauren Bedingungen die Fluoreszenzintensität von DALGreen.

Literatur

Journal

H. Iwashita, H. T. Sakurai, N. Nagahora, M. Ishiyama, K. Shioji, K. Sasamoto, K. Okuma, S. Shimizu and Y. Ueno, "Small fluorescent molecules for monitoring autophagic flux", *FEBS Lett.*, **2018**, 592(4), 559.

Kontakt mit uns

info@dojindo.eu.com

Information suchen nach Schlüsselwörtern!



Autophagie Detektionsreagenz

DAPGreen - Autophagy Detection, DALGreen - Autophagy Detection

Allgemeine Informationen

Die Erkennung ist mit einem Fluoreszenzmikroskop, einem Durchflusszytometer und einem Mikroplatten-Reader mit DAPGreen möglich. DALGreen kann in zwei Methoden angewendet werden (Fluoreszenzmikroskop und Durchflusszytometer). Bitte wählen Sie die für Sie am besten geeignete Methode aus.

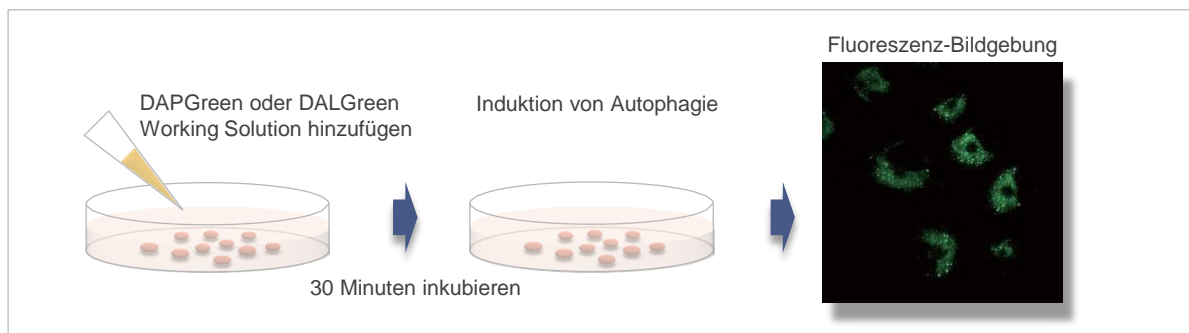
	Verfügbare Geräte			Fluoreszierende Eigenschaft	Volumen/die Anzahl der verwendbaren Assays	Vorhandene Methoden
	Fluoreszenz-mikroskop	Durchfluss-zytometer	Mikroplatten-Reader			
DAPGreen	○	○	○	Ex. 425-475 Em. 500-560 ※Für das Konfokalmikroskop kann die Probe bei 488 nm angelegt werden	5 nmol x 1 / 35 mm dish x 25 (bei Verwendung mit max. Konzentration)	LC3-GFP MDC Cyto-ID usw.
DALGreen	○	○	×	Ex. 350-450 Em. 500-560 ※Für das Konfokalmikroskop kann die Probe bei 488 nm angelegt werden	20 nmol x 1 / 35 mm dish x 10 (bei Verwendung mit max. Konzentration)	LC3-GFP-RFP usw.

※ Bitte besuchen Sie unsere Website für Spectrum Daten

※ Doppelfärbung durch DAPGreen und DALGreen ist nicht möglich

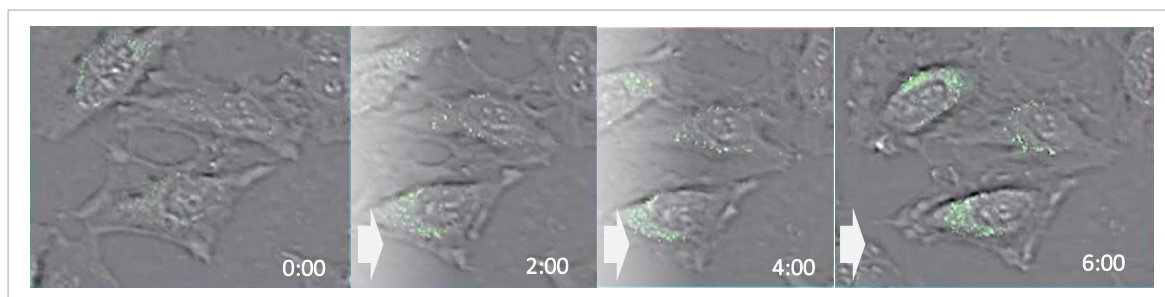
Einfaches Verfahren

Eine Gentransfektion ist nicht erforderlich. Sie müssen das Reagenz nur zur Kulturzelle hinzufügen und so erhalten Sie ein fluoreszierendes Bild.



Zeitablauf-Bildgebung von Autophagie

Nach Färbung mit DALGreen wurden HeLa-Zellen unter Hungerbedingungen 6 Stunden lang beobachtet.



Obige Bildgebung unter Verwendung folgender Voraussetzungen

Medium : Aminosäuren-freies Kulturmedium

Maschine : Confocal Quantitative Image Cytometer (YOKOGAWA Electric Corporation : CQ1)

Fluoreszenzfilter Ex. 405 / Em. 525/50

Magnifikation: 20X

Die Fluoreszenz von DALGreen wird erhöht, nachdem die Autophagie induziert wurde.

Bitte besuchen Sie unsere Website, um das Bildgebungsvideo anzusehen.

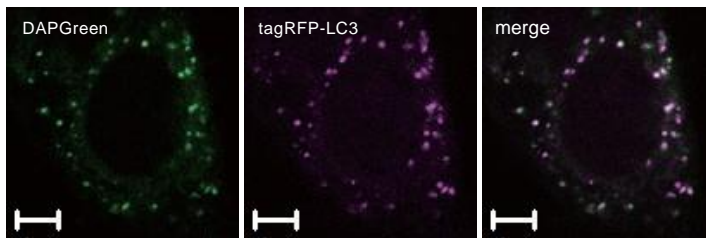
DAPGreen – Autophagy Detection

Autophagosom Detektionsreagenz (D676-10, 5 nmol)



Gute Korrelation mit LC3

Die HeLa-Zellen wurden durch DAPGreen und tagRFP-LC3 doppelt gefärbt, um ihre Kolokalisation zu bestimmen.



Ergebnis
Fast alle DALGreen-Signale wurden mit LC3-II kolokalisiert.

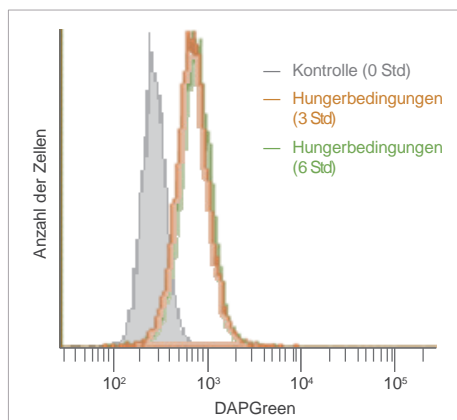
Bildgebung unter folgenden Voraussetzungen
DAPGreen: Ex. 488 nm / Em. 500-563 nm
Maßstabsbalken: 10 µm

Autophagie-Induktion unter den folgenden Bedingungen

Nach Hinzufügung von DAPGreen zu den RFP-LC3-exprimierten HeLa-Zellen wurden die Zellen mit Rapamycin behandelt, um Autophagie zu induzieren. Die Fluoreszenz-Bildgebung wurde 4 Stunden nach der Autophagie-Induktion durch eine konfokale Mikroskopie durchgeführt.

Quantitative Analyse mit Durchflusszytometer

Nach einer Autophagie-Induktion wurde Fluoreszenz von DAPGreen mit einem Durchflusszytometer beobachtet.



Ergebnis

Nach 3 Stunden Inkubation unter Hungerbedingungen wurde starke Fluoreszenz von DAPGreen nachgewiesen.

Erkennung

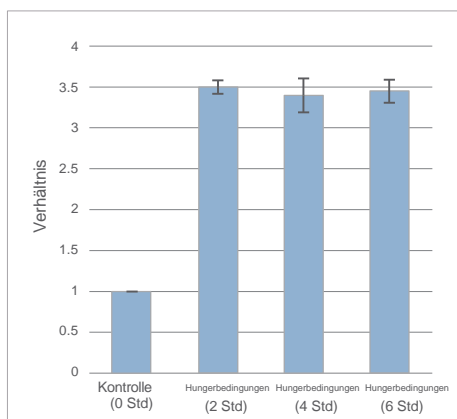
Wellenlänge: Ex. 488 nm / Em. 500-560 nm

Autophagie-Induktion unter den folgenden Bedingungen

Nach Färbung mit DAPGreen wurden HeLa-Zellen 0, 3, 6 Stunden lang in aminosäure-freiem Kulturmedium inkubiert. Somit wurde die Fluoreszenz mit einem Durchflusszytometer nachgewiesen.

Quantitative Analyse mit Mikroplatten-Reader

Nach einer Autophagie-Induktion wurde Fluoreszenz von DAPGreen mit einem Mikroplatten-Reader beobachtet.



Ergebnis

Nach 2 Stunden Inkubation unter Hungerbedingungen wurde eine erhöhte Fluoreszenz von DAPGreen beobachtet. Sie war ca. 3,5 mal stärker als "Kontrolle".

Erkennung

Wellenlänge: Ex. 450 nm / Em. 535 nm

Autophagie-Induktion unter den folgenden Bedingungen

Nach Färbung mit DAPGreen wurden HeLa-Zellen 0, 2, 4, 6 Stunden lang in aminosäure-freiem Kulturmedium inkubiert. Somit wurde die Fluoreszenz mit einem Mikroplatten-Reader nachgewiesen.



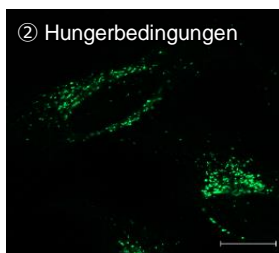
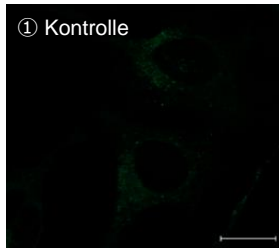
DALGreen – Autophagy Detection

Autolysosom Detektionsreagenz (D675-10, 20 nmol)



Autolysosom-Analyse durch Mikroskopie

Nach Hinzufügen von DALGreen wurden HeLa-Zellen entweder mit einem Wachstumsmedium (①) oder einem aminosäure-freiem Kulturmedium (②) inkubiert.



Ergebnis

Punktförmige, starke Fluoreszenz von DALGreen wurde in HeLa-Zellen (unter Hungerbedingungen) beobachtet.

Bildgebung unter folgenden Voraussetzungen

Erkennung : Konfokales Fluoreszenzmikroskop
Ex. 488 nm/ Em. 500-563 nm
Maßstabsbalken : 20 µm

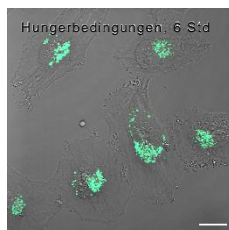
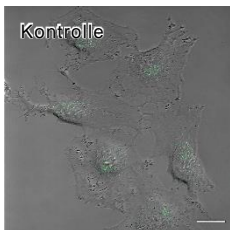
Autophagie-Induktion unter den folgenden Bedingungen

- ① Kontrolle
6 Stunden Inkubation in Wachstumsmedium
- ② Hungerbedingungen
6 Stunden Inkubation in aminosäure-freiem Kulturmedium

Vergleich mit MDC

Autophagie in HeLa-Zellen (unter Hungerbedingungen) wurde entweder unter Verwendung von DALGreen oder MDC (Monodansylcadaverine) beobachtet.

Live Cell Imaging mit DALGreen



Farbstoffkonzentration: 1 µmol/l
Inkubationszeit: 30 Minuten
Erkennung:
Konfokales Fluoreszenzmikroskop
Ex. 488 nm/ Em. 500-563 nm
Maßstabsbalken: 40 µm
Das Reagenz wurde 6 Stunden
VOR Induktion von
Hungerbedingungen zugegeben.

Ergebnis

Die Fluoreszenzintensität von DALGreen wurde in HeLa-Zellen (unter Hungerbedingungen) erhöht. Die Fluoreszenzintensität von MDC wurde jedoch nicht signifikant verändert.

Wellenlänge

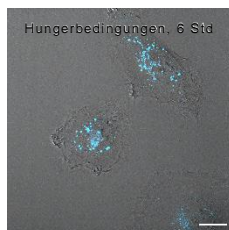
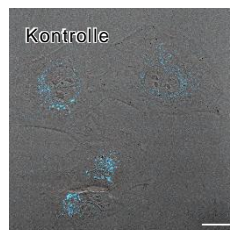
MDC benötigt eine UV-Detektion, die lebende Zellen schädigen kann. Allerdings kann DALGreen bei einer längeren Wellenlänge angeregt werden.

Verfahren

DALGreen kann zum Monitoring von Autophagie verwendet werden. Im Gegensatz zu MDC kann das Reagenz bereits vor der Induktion von Autophagie hinzugefügt werden.

DALGreen : Reagenz hinzufügen ⇒ Hungerbedingungen Induktion
MDC : Hungerbedingungen Induktion ⇒ Reagenz hinzufügen

Live Cell Imaging mit MDC



Farbstoffkonzentration: 1 µmol/l
Inkubationszeit : 30 Minuten
Erkennung:
Konfokales Fluoreszenzmikroskop
Ex. 405 nm/ Em. 450-546 nm
Maßstabsbalken: 40 µm
Das Reagenz wurde 6
Stunden **NACH** Induktion von
Hungerbedingungen
zugegeben.

Achtung: Bitte fügen Sie DALGreen **VOR** der Autophagie-Induktion hinzu.



STATE OF THE ART
LIFE SCIENCE
TECHNOLOGIES

EUROPEAN HEADQUARTERS

DOJINDO EU GMBH

Leopoldstr. 254, 80807 Munich, Germany

Phone +49 89 3540-4805

Fax +49 89 3540-4806

email info@dojindo.eu.com

www.dojindo.eu.com

DISTRIBUTED BY