

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01153

产品介绍

DiO 细胞膜荧光探针（绿色）是一种亲脂性膜染料，进入细胞膜后可以侧向扩散逐渐染色整个细胞的细胞膜。DiO 细胞膜荧光探针（绿色）在进入细胞膜之前荧光非常弱，当与细胞膜结合后其荧光强度大大增强，被激发后可以发出绿色荧光，具有很高的淬灭常数和激发态寿命，可以用标准的 FITC 滤光片检测。

DiO 细胞膜荧光探针（绿色）作为示踪剂或长期示踪剂，被广泛用于正向或逆向的，活的或固定的神经等细胞或组织。DiO 细胞膜荧光探针（绿色）通常不会显著影响细胞的生存力。

DiO 细胞膜荧光探针（绿色）除了细胞膜荧光标记外，还可用于检测细胞的融合和粘附、发育或移植过程中的细胞迁移，通过 FRAP（光脱色荧光恢复技术）检测脂在细胞膜上的扩散，检测细胞毒性和标记脂蛋白等。

在固定透化（室温下用 0.1% TritonX-100 透化）后，可以用 DiO 细胞膜荧光探针（绿色）进行质膜染色，也可以在 DiO 细胞膜荧光探针（绿色）染色后可进行多聚甲醛（不可使用甲醇等其他试剂）的固定，但不建议在染色后进行透化。。DiO 细胞膜荧光探针（绿色）染色强度通常低于 DiI，有时在固定组织中会完全丧失。激发和发射光谱请见产品参数。

以每次使用 100 μ L 染色工作液，染色工作液浓度 10 μ M 计算，10 mg 配置为工作液大概可以用 11341 次。

DiO 细胞膜荧光探针（绿色）溶于无水乙醇、无水 DMSO 和无水 DMF，在无 DMSO 中的溶解度约为 10 mg/mL。较难溶解时，可以适当加热或者超声处理。

应用范围

细胞膜荧光染料、神经元顺行和逆行示踪、细胞长期示踪

储运条件

-20 $^{\circ}$ C 避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

稳定性好：荧光亮度强且抗淬灭性好，可以在细胞内很好的保留；

批间差小：产品为公司自研，批间差控制的好；

扩散速度快：常用于细胞示踪，细胞迁移等；

使用方便：可搭配我司其它试剂使用，方便灵活。

产品参数

外观：黄色固体

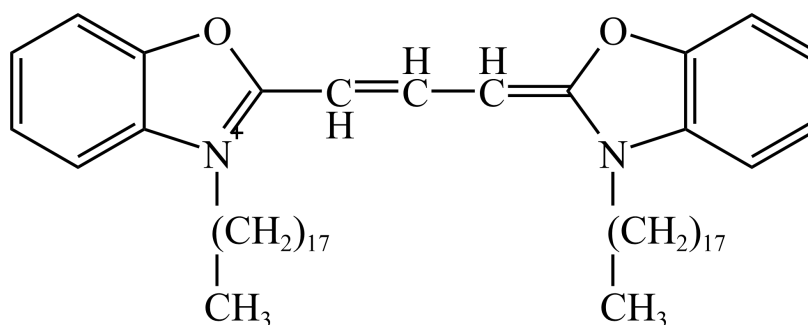
Ex/Em：484/501 nm (MeOH)

CAS 号：34215-57-1

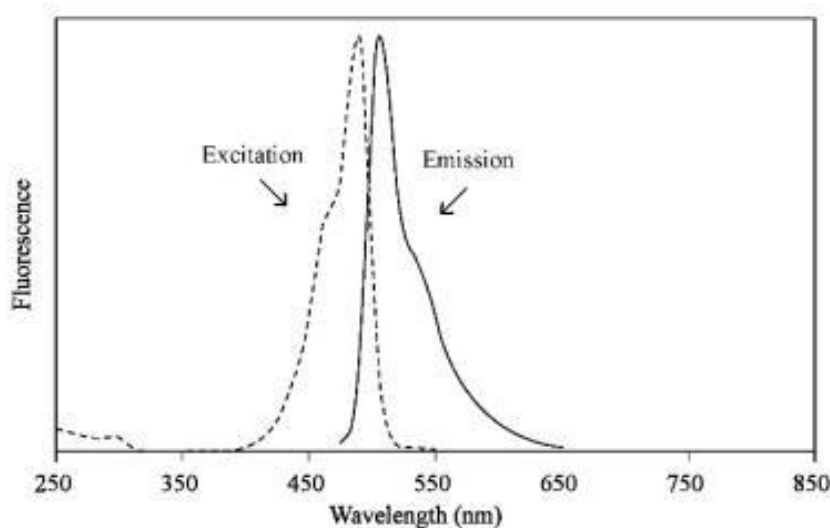
分子式：C₅₃H₈₅ClN₂O₆

分子量：881.7

分子结构图:



光谱图:



注意事项

- 1.使用前请将产品瞬时离心至管底,再进行后续实验。
- 2.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。
- 3.DiO 细胞膜荧光探针(绿色)染色固定的细胞或组织样品时,通常使用配制在 PBS 中的 4% 多聚甲醛进行固定,使用其它不适当的固定液会导致荧光背景较高。
- 4.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。
- 5.为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1. 耗材
(1) 离心管 (2) 盖玻片
2. 试剂
(1) 无水 DMSO 或 无水 EtOH 或 无水 DMF (2) 无血清培养基 或 HBSS 或者 PBS (3) 培养基 (预温)
3. 仪器
荧光显微镜 或 流式细胞仪

操作步骤

1. 染色液制备

(1) 配制储液: 储液用无水 DMSO、无水 DMF 或 EtOH 配制, 浓度 1~5 mM。DiO 细胞膜荧光探针(绿色) 在无水 DMSO 和无水 DMF 中的溶解度比在 EtOH 中的溶解度高。

注: 1) 未使用的储存液分装储存在 -20 °C, 避免反复冻融;

2) 发现较难溶解时可以适当加热，并用超声处理以促进溶解。

(2) 工作液制备：用合适的缓冲液（如：无血清培养基，HBSS 或 PBS）稀释储液，配制浓度为 1~30 μM 的工作液。最常用的工作液浓度为 5~10 μM 。

注：工作液最终浓度建议根据不同细胞系和实验体系来优化。建议从推荐浓度的 10 倍范围内开始最优浓度的摸索。

2. 悬浮细胞染色

(1) 加入适当体积的染色工作液重悬细胞，使其密度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 。

(2) 37 °C 孵育细胞 2~20 min，不同的细胞最佳培养时间不同。可以 20 min 作为起始孵育时间，之后优化体系以得到均一的标记效果。

(3) 孵育结束，1000~1500 rpm 离心 5 min。倾倒入清液，再次缓慢加入 37 °C 预热的生长培养液重悬细胞。

(4) 重复步骤 (3) 两次以上。

3. 贴壁细胞染色

(1) 将贴壁细胞培养于无菌盖玻片上。

(2) 从培养基中移走盖玻片，吸走过量培养液，但要使表面保持湿润。

(3) 在盖玻片的一角加入 100 μL 的染料工作液，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。

(4) 37 °C 孵育细胞 2~20 min，不同的细胞最佳培养时间不同。可以 20 min 作为起始孵育时间，之后优化体系以得到均一的标记效果。

(5) 吸干染料工作液，用培养液洗盖玻片 2~3 次，每次用预温的培养基覆盖所有细胞，孵育 5~10 min，然后吸干培养基。但要使表面保持湿润。

4. 结果检测

样品可在培养基中进行检测，可通过荧光显微镜成像或流式细胞仪分析。

注：绿色光激发，荧光显微镜滤光片可以选择 FITC 滤光片；流式细胞仪选择 FITC 通道。