

产 品 说 明 书

产品名称: DiO (DiOC18(3))

产品货号: BN14007

产品规格: 10 mg

应用范围: 细胞膜荧光染料, 主要用于细胞成像, 细胞示踪和追踪

产品参数

外观: 黄色固体

溶解性: DiO 溶于无水乙醇、DMSO 和 DMF, 在 DMSO 中的溶解度约为 10mg/ml。较难溶解时, 可以适当加热或者超声处理。

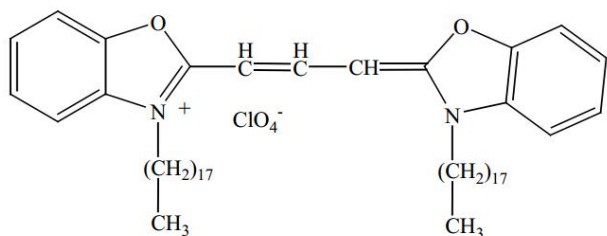
$\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}(\text{MeOH}) = 484/501 \text{ nm}$

CAS 号: 34215-57-1

分子式: $\text{C}_{53}\text{H}_{85}\text{ClN}_2\text{O}_6$

分子量: 882

分子结构图:



贮存条件

4℃ 避光保存, 配制的储存液-20℃避光保存, 有效期见外包装。

产品介绍

DiO 即 DiOC18(3), 是最常用的细胞膜荧光探针之一, 呈现绿色荧光。DiO 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 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 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 通常不会显著影响细胞的生存力。

DiO 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 (Fluorescence Recovery After Photobleaching) 检测脂在细胞膜上的扩散, 检测细胞毒性和标记脂蛋白等。

DiO 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的过程。此外, 在固定透化 (室温下用 0.1% TritonX-100 透化) 后, 也可以很好地进行质膜染色。DiO 染色强度通常低于 DiI, 有时在固定组织中会完全丧失。

使用方法

1. 染色液制备

(1) 配置无水 DMSO、无水 DMF 或 EtOH 储存液: 储存液用无水 DMSO、无水 DMF 或 EtOH 配置浓度 1~5 mM。DiO 在 DMSO 和 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℃, 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) 稀释储存液, 配制浓度为 1~30 μM 的工作液。最常用工作液浓度为 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℃ 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结果。

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

(4) 重复步骤 (3) 两次以上。

3. 贴壁细胞的染色

(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，但表面要保持湿润。

(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℃ 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结果。

(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，可以通过荧光显微镜成像或流式细胞仪分析。

注意事项

1. DiO 染色固定的细胞或组织样品时，样品宜使用配制在 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。

2. 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。

3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。