



## DiO perchlorate

——细胞膜绿色荧光探针

产品货号	包装规格
<b>C016</b>	<b>25 mg</b>

储存条件：-20℃，避光保存。

激发/发射波长：484/501 nm

## 产品说明书

安迪福诺生物科技（武汉）有限公司

ABP Biosciences Inc

武汉市东湖新技术开发区高新大道666号

光谷生物城生物创新园 C2-4 栋 5 楼

电话：400-0667-718

邮箱：[sales@abpbio.cn](mailto:sales@abpbio.cn)

网址：[www.abpbio.com](http://www.abpbio.com) (英文)

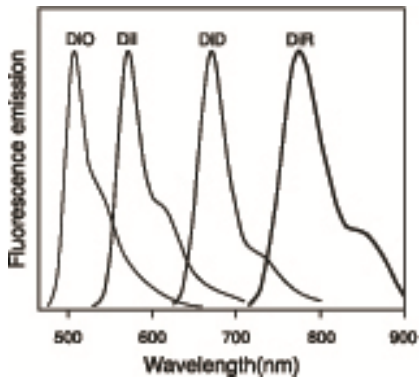
[www.abpbio.com.cn](http://www.abpbio.com.cn) (中文)

## 产品介绍

DiO 即 DiOC<sub>18</sub>(3)，全称为 3,3'-dioctadecyloxacarbocyanine perchlorate，属于长链二烷基羰花青化合物家族之一。DiO 是最常用的亲脂性细胞膜荧光探针之一，呈现绿色荧光，进入细胞膜后可以侧向扩散逐渐使整个细胞的细胞膜被染色。DiO 在进入细胞膜之前荧光非常弱，仅当进入到细胞膜后才可以被激发出很强的荧光。除了最简单的细胞膜荧光标记外，DiO 还可以用于检测细胞的融合和粘附，检测发育或移植过程中细胞迁移，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。

长链二烷基羰花青化合物家族广泛应用于固定和非固定的组织与细胞中，可进行顺行或逆行的神经示踪分析，特别是家族中的 DiI。DiI 不会影响细胞的活力、生长及基本的生理特性。DiI 标记运动神经元，可在培养基条件下持续跟踪长达四周，在体内长达一年。染料通过在质膜中的缓慢横向扩散均匀标记神经元，每个固定标本的扩散速率为 0.2~0.6 mm/每天。而在活体组织里，可以达到 6 mm/每天。经甲醛固定的组织，DiI 的扩增可持续长达 1-2 年。一般情况下未标记的染料不会向非标记的细胞转移，除非细胞质膜被破坏，比如细胞组织切片部位。

## 光谱特性



DiO, DiI, DiD 与 DiR 结合磷脂双分子层后的标准发射光谱图。

## 实验步骤

### 制备储存液

将固体染料溶于DMF或DMSO或乙醇配制为1 mM的储存液。对于DiO，优选DMF作为溶剂。配制好的储存液，在避光-20°C的条件下至少可以保存6个月。

### 悬浮细胞的染色

- 1.1 将细胞以  $1 \times 10^6$ /ml 的密度悬浮于无血清培养基中；
- 1.2 每 1ml 细胞悬液加入 5 $\mu$ l 细胞染色液，混匀；
- 1.3 37 $^{\circ}$ C 孵育 1~20 分钟。不同类型的细胞孵育条件不一样，可参考表格 1。初始孵育时间可选择 20 分钟，然后再进行优化；

- 1.4 将孵育后的细胞悬液 37°C，1500rpm，离心 5 分钟；
- 1.5 弃去上清，用 37°C 的培养基轻轻悬浮细胞；
- 1.6 重复以上洗涤步骤（1.4 和 1.5）两次；
- 1.7 放置 10 分钟后测定荧光信号。

### 贴壁细胞的染色

- 2.1 放置干净的载玻片在培养皿内，让细胞爬片生长至合适浓度；
- 2.2 取出爬片，用吸水纸从边缘轻轻吸去多余的培养基，然后将爬片放置于湿盒内；
- 2.3 配制染色液：每 1ml 培养基加入 5 $\mu$ l 细胞染色液；
- 2.4 用移液器吸取 100 $\mu$ l 步骤 2.3 中配制好的染色液，从边角处加入爬片，轻轻摇动使所有染色液覆盖整个爬片；
- 2.5 将爬片置于 37°C 孵育，不同类型的细胞孵育的时间不尽相同（参考表 1）；对于未在表中列出的细胞类型，建议孵育时间设为 20 分钟，然后再进行优化以获得均一的染色效果；
- 2.6 吸去染色液，加入温育过的培养基孵育 10 分钟，重复此洗涤步骤三次。

表 1. 推荐的细胞染色孵育时间

细胞系	推荐的孵育时间
Jurkat	2 分钟
HeLa	8 分钟
P3X	15 分钟
3T3	15 分钟

表 2. DiO, Dil, DiD 与 DiR 光谱特性

Tracer	激发波长(nm)	发射波长(nm)	推荐滤光器	
			Omega	Chroma
DiO	484	501	XF23	31001
Dil	549	565	XF32	31002
DiD	644	665	XF47	31023
DiR	750	780	XF112	41009