

DiO 细胞膜绿色荧光探针

产品货号: D-9102

产品规格: 10mg

保存方法: -20°C干燥避光保存, 有效期1年。

产品描述:

DiO 是一种亲脂性的荧光染料, 可以用来染细胞膜和其它脂溶性生物结构。进入细胞膜后, DiO 在整个细胞膜上扩散, 最佳浓度时可以使整个细胞膜染色。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的荧光, 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 通常不会明显影响细胞的生存力, 因此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的示踪。

具有相同功能的同一族亲脂性的荧光染料还有: DiD, DiO, Dil, DiR 和 DiS, 它们的荧光颜色区分明显: Dil (橙色荧光), DiO (绿色荧光), DiD (红色荧光) 和 DiR (深红色荧光) 这使得他们可以用来对活细胞进行多色成像和流式分析。Dil 和 DiO 可以分别用标准的 FITC 和 TRITC 的滤光片。DiD 可以用 633 nm He-Ne 激光器激发, 有着比 Dil 更长的激发波长和发射波长, 在细胞和组织染色中更有价值。DiR 的红外荧光可以穿透细胞和组织, 在活体成像中用来示踪。

产品性质:

CAS 号: 34215-57-1	Ex/Em: 484/501 nm
分子式: C ₅₃ H ₈₅ ClN ₂ O ₆	推荐滤光器: XF23-Omega, 31001-Chroma
分子量: 881.72	外观: 橘色至红色固体
MDL: MFCD00064212	溶解性: DMSO 10mg/mL
纯度: > 97%(HPLC)	敏感性: 对光敏感

使用方法

1. 染色液制备

(1) 配置 DMSO 或 EtOH 储存液: 储存液用 DMSO 或 EtOH 配置浓度 1~5 mM。分装储存在 -20°C, 避免反复冻融。

(2) 工作液制备: 用适当缓冲液 (如: 无血清培养基, HBSS 或 PBS) 稀释储存液, 配制浓度为 1~5 μM 的工作液。

【注】工作液最佳浓度应根据不同细胞系和实验体系来优化。

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 1×10^6 /mL。

(2) 37°C 孵育细胞 2 ~ 20min, 不同的细胞最佳培养时间不同。可以 20min 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, 按 1000 ~ 1500 rpm 离心 5min。

(4) 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。

(5) 重复 (3), (4) 步骤两次以上。

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, 将盖玻片放在潮湿的环境中。

(3) 在盖玻片的一角加入 100 μ L 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 ~ 20min, 不同的细胞最佳培养时间不同。可以 20min 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 ~ 10min, 然后吸干培养基。

4. 显微镜检测

(1) DiD, DiO, Dil, DiR 和 DiS 滤光器的选择参见表 1。

(2) 多色染料的同时检测, 滤光器按照以下设定:

a) Dil 和 DiO = Omega XF52, Chroma 51004;

b) Dil 和 DiD = Omega XF92, Chroma 51007;

c) Dil, DiO 和 DiD = Omega XF93, Chroma 61005

5. 流式细胞仪检测

经 DiO, Dil, DiD 和 DiR 染色的细胞可分别用流式细胞仪的 FL1, FL2, FL3 或 FL4 通道检测。

注意事项

1. 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。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

表 1 相关产品性质

产品名称	货号	分子量	Ex/Em	推荐滤光器
DiO	D-9102	881.7	484/501 nm	XF23-Omega, 31001-Chroma
Dil	D-9101	933.87	550/567 nm	XF32-Omega, 31002-Chroma
DiD	D-9110	959.91	644/663 nm	XF47-Omega, 31023-Chroma
DiR	D-9111	1013.39	748/780 nm	XF112-Omega,41009-Chroma