

## DiO

货号：D5840

规格：10mg

保存：4℃ 避光保存，保质期一年。配制的储存液-20℃ 避光保存，保质期六个月。

### 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。

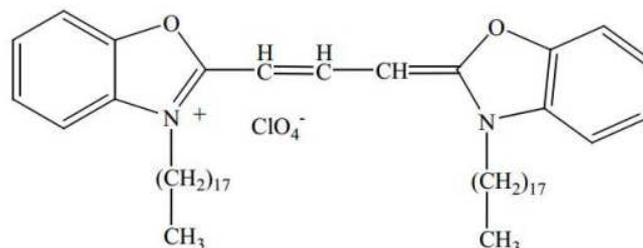
$\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}(\text{MeOH}) = 484/501 \text{ nm}$

CAS 号：34215-57-1

分子式：C<sub>53</sub>H<sub>85</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

分子量：882

分子结构图：



### 产品说明：

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  $\mu\text{M}$  的工作液。最常用的工作液浓度为 5-10  $\mu\text{M}$ 。

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)  $37^\circ\text{C}$  孵育细胞 2~20 min，不同的细胞最佳培养时间不同。可以以 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。倾倒上清液，再次缓慢加入  $37^\circ\text{C}$  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  $\mu\text{L}$  的染料工作液，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。

(4)  $37^\circ\text{C}$  孵育细胞 2~20 min，不同的细胞最佳培养时间不同。可以以 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。

**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。

### 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。