

产 品 说 明 书

DiO Plus（细胞膜绿色荧光探针升级款）

产品货号：N4021

产品规格：5 mg

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

产品参数

外观：可溶于乙醇、己烷、DMSO 或植物油的橙黄色固体

Ex/Em (MeOH) = 484/501 nm

分子式：C₆₇H₁₀₅ClN₂O₅S

分子量：1086.0

储存条件

4°C避光保存，有效期见外包装。

产品介绍

DiO Plus 效能等同于 Neuro-DiO。

DiO Plus 是一种代替膜绿色荧光染料 DiO 的新型染料，DiO 由于其溶解度低、易形成聚合物和横向扩散速度缓慢等缺点，很难用于神经元和细胞悬液的研究。DiO Plus 和 DiO 具有几乎相同的吸收光谱和发射光谱，但前者具有更好的膜溶解性，并且不形成非荧光性的聚集体，通常这也会减慢染料在膜上的扩散速率。

DiO Plus 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。

以每次使用 100 μL 染色工作液，染色工作液浓度 3 μM 计算，10 mg 配置为工作液大概可以用 15346 次。

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。

注：未使用的储存液分装储存在-20°C，避免反复冻融。

（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 1~5 μM 的工作液。

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 1×10⁶/mL。

（2）37°C 孵育细胞 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°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 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 2~20 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. 使用前请将产品瞬时离心至管底, 再进行后续实验。

2. DiO Plus 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。

3. 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。

4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

