

## Product Manual

## 产品说明书

### 产品货号

PR01154

### 产品介绍

DiO Plus 细胞膜荧光探针（绿色）效能等同于 Neuro-DiO。

DiO Plus 细胞膜荧光探针（绿色）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 细胞膜荧光探针（绿色）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。激发发射光谱可参考 DiO，请详见产品参数。

DiO Plus 细胞膜荧光探针（绿色）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  $\mu$ L 染色工作液，染色工作液浓度 3  $\mu$ M 计算，10 mg 配置为工作液大概可以用 15346 次。

### 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

### 储运条件

4  $^{\circ}$ C 避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

### 产品特点

**稳定性好：**荧光亮度强且抗淬灭性好，可以在细胞内很好的保留，适合细胞示踪；

**批间差小：**产品为公司自研，批间差控制的好；

**膜溶解性好：**溶解性好，不易形成非荧光性聚集体；

**使用方便：**可搭配我司其它试剂使用，方便灵活。

### 产品参数

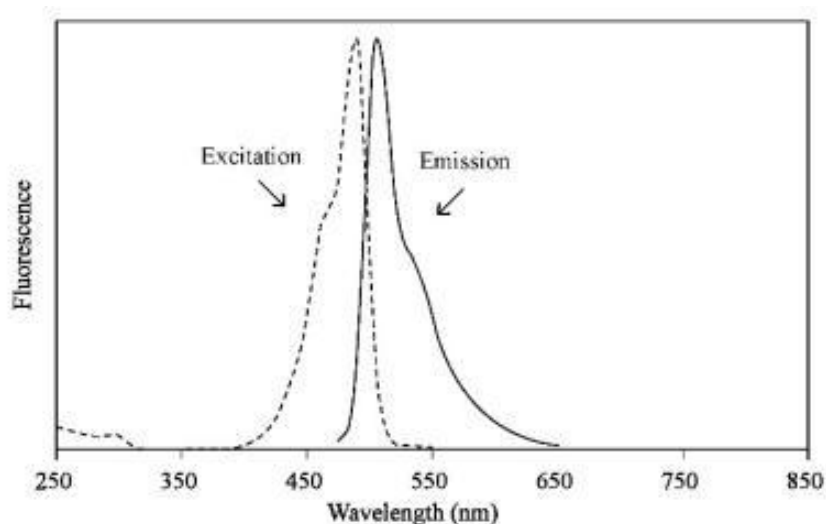
外观：可溶于乙醇、己烷、DMSO 或植物油的橙黄色固体

Ex/Em：484/501 nm (MeOH)

分子式：C<sub>67</sub>H<sub>105</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

分子量：1086.0

光谱图:



## 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.荧光染料均存在淬灭问题，实验操作时请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
- 3.DiO Plus 细胞膜荧光探针（绿色）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。
- 4.本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
- 5.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 自备材料

### 1.耗材

- (1) 离心管 (2) 盖玻片

### 2.试剂

- (1) 无水 DMSO 或 无水 EtOH (2) 无血清培养基 或 HBSS 或 PBS (3) 培养基 (预温)

### 3.仪器

荧光显微镜 或 流式细胞仪

## 操作步骤

### 1.染色液制备

- (1) 配制储液：储存液用 DMSO 或 EtOH 配制浓度 1~5 mM。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  $\mu$ M 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  $1 \times 10^6$ /mL。
- (2) 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效果。
- (3) 孵育结束，1000~1500 rpm 离心 5 min。倾倒上清液，再次缓慢加入 37 °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，但要使表面保持湿润。
- (3) 在盖玻片的一角加入 100  $\mu$ 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效果。

(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，可通过荧光显微镜成像或流式细胞仪分析。

**注：绿色光激发，荧光显微镜滤光片可以选择 FITC 滤光片；流式细胞仪选择 FITC 通道。**