

DiO Plus (细胞膜绿色荧光探针升级款)

产品介绍

DiO Plus 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。

在固定透化（室温下用 0.1% TritonX-100 透化）后，可以很好地用 DiO Plus 进行质膜染色，也可以在 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。

以每次使用 100 μ L 染色工作液，染色工作液浓度 10 μ M 计算，10 mg 配置为工作液大概可以用 11341 次。

应用范围

细胞膜染色、细胞融合、粘附和迁移示踪剂、小动物成像

产品货号

D4021

储运条件

-20°C 干燥避光保存，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，可在细胞内稳定保留；

批间差小： 公司自研产品，批间差稳定；

扩散速度快： 常用于细胞示踪，细胞迁移等；

使用方便： 可搭配我司其它试剂使用，方便灵活。

产品组别

组分	N4021
DiO Plus (细胞膜绿色荧光探针升级款)	5 mg

产品参数

外观： 可溶于乙醇、己烷、DMSO或植物油的橙黄色固体

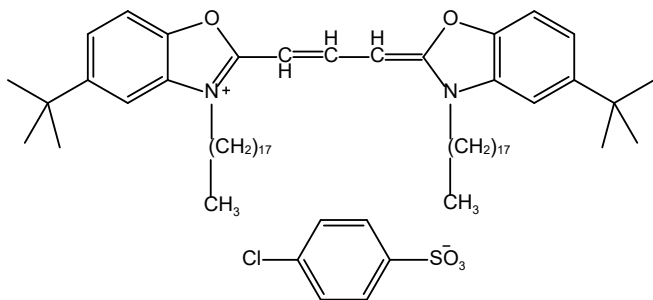
Ex/Em： 484/501 nm (MeOH)

CAS号： 938222-76-5

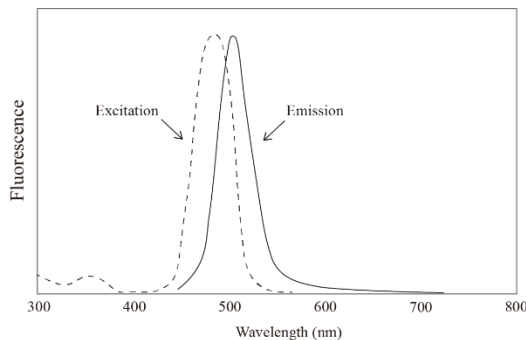
分子式： C₆₇H₁₀₅ClN₂O₅S

分子量： 1086.0

分子结构图：



光谱图：



注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 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。
- Di 系列染料为亲脂性染料，在水相中溶解度极低。若稀释步骤不当，染料极易聚集形成荧光微粒，吸附在细胞表面或玻片上。
- 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。
- 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。
- 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

- 耗材
(1) 离心管 (2) 盖玻片
- 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）
- 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：储液用无水 DMSO 或无水 EtOH 配制，浓度 1~5 mM。未使用的储液建议分装后储存在 -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）稀释储液，配制浓度为 1~5 μ 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。如果后续染色效果不佳，可以在稀释工作液时加入 0.25 mM β -环糊精与 0.04% F-127 促融，使染料本身更稳定。

2. 悬浮细胞染色

- 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。
- 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。
- 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。
- 重复步骤(3)两次以上。

3. 贴壁细胞染色

- 将贴壁细胞培养于无菌盖玻片上。
- 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。
- 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。

(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 (BL1) 通道。

FAQ

1. 问：相较于 DiO 染料，DiO plus 的优势是什么？

答：DiO Plus 具有更好的膜溶解性，并且不形成非荧光性的聚集体，在膜上的扩散速度更快。

2. 问：染色发现背景有杂点的可能原因？且细胞大部分未染上，有什么好的改进方法吗？

答：考虑是染料稀释成工作液时发生聚集，溶解度问题导致。细胞膜染料为亲脂性染料，水溶解度不是很好，稀释成工作液时建议(1) 储液稀释成工作液时尽快震荡混匀；(2) 提前将稀释需要的液体如 PBS 水浴加热至 37°C，超声促进溶解；(3) 可用 10000 g 离心 2 min 检查底部是否无明显颗粒，若有，说明稀释时染料发生聚集，该工作液需加热超声助溶。若仍然有杂点，稀释工作液时可以加入 0.25 mM β-环糊精与 0.04% F-127 促融（使染料本身更稳定）。

3. 问：Di 系列染料染色细胞后，用 4%多聚甲醛固定和 0.1% TritonX-100 透化后，染色亮度低的原因是什么？

答：Di 系列的细胞膜染料均是亲脂类染料。经 TritonX-100 进行透化处理后，磷脂双分子层被破坏，影响 Di 系列染料与细胞膜的结合导致染色亮度变低。Di 系列的染料较推荐活细胞的细胞膜染色。

4. 问：细胞追踪有很多产品，该如何选择？

答：可以先确定需要追踪细胞的时长，再结合染料的结合机制选择：

(1) 钙黄绿素染料（C4041）标记均匀，对短期细胞迁移示踪效果极佳，但会被部分细胞迅速外排。

(2) 亲脂性花青素染料，如 Dil (D40100, DIO (D4007), DiA (D4059), DiD (D4019), DiR (D4006)能标记细胞膜而不破坏其功能，并且能持续更长时间，但如果发生膜融合则可能会染上其他细胞。此外，它们还会在透化过程中丢失。

(3) Cell Tracker 染料（C4060）更适合长期标记，它带有温和的氯甲基反应基团，能够与细胞组分共价结合。

(4) CFDA SE(4070)也可以和细胞组分共价结合。

上述所有试剂在细胞内的保留情况，取决于细胞分裂速率和细胞固有特性，包括主动外排能力、膜及蛋白质周转率等。共价结合试剂的细胞内保留时间明显长于非共价结合试剂。

同系列产品

产品货号	产品名称	选购指南
D4007	DiO (细胞膜绿色荧光探针)	细胞膜、外泌体染色，（长期）示踪剂，较推荐活细胞
N4021	DiO Plus (细胞膜绿色荧光探针升级款)	细胞膜染料，细胞膜上染料横向迁移率低，溶解性更好，较推荐活细胞
D4019	DiD (细胞膜红色荧光探针)	细胞膜、外泌体染色，（长期）示踪剂，活体成像，不易淬灭，较推荐活细胞
C4050	CytoMBrite™ 细胞膜红色荧光探针	可参考 D4019

产品货号	产品名称	选购指南
D4006	DiR (细胞膜近红外荧光探针)	细胞膜、外泌体染色，示踪剂，更多用于活体成像，细胞间染料转移率低，较推荐活细胞
C4044	CytoMBrite™ 细胞膜近红外荧光探针	可参考 D4006
D4010	Dil (细胞膜橙红色荧光探针)	细胞膜染料，（长期）示踪剂，与 DiA 常连用进行双色标记，较推荐活细胞
C4049	CytoMBrite™ 细胞膜橙红色荧光探针	可参考 D4010
C4060	Cell Tracker CM-Dil (细胞膜橙红色荧光探针)	细胞膜染料，示踪剂，72 h 荧光稳定，推荐活细胞或者醛固定的细胞。
D4053	Dilinoylel Dil (细胞膜橙红色荧光探针)	细胞膜染料，广泛用于神经元组织示踪，横向扩散效率较 Dil 高，较推荐活细胞
D4059	DiA (细胞膜绿色荧光探针)	细胞膜染色，相较于 DiO 细胞膜扩散效率高，常与 Dil 进行膜双色标记，较推荐活细胞