

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

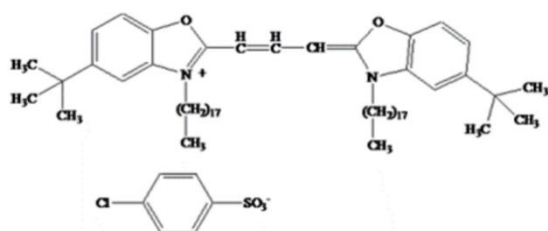
外观：可溶于乙醇、己烷、DMSO 或植物油的橙黄色固体

Ex/Em(MeOH): 484/501 nm

分子式：C₁₆H₁₇Cl₂N₅

分子量：1086

分子结构图：



储存条件

4℃避光保存，有效期见外包装。

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。

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。

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℃，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℃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。倾倒下清液，再次缓慢加入 37℃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 μL 的染料工作液，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。

（4）37℃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. DiO Plus 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。

