产品名称：DiO（细胞膜绿色荧光探针）

产品货号：RA20005

基本信息

中文名称	DiO（细胞膜绿色荧光探针）
英文名称	DiO
产品规格	10mg
存储条件	4℃，避光保存
运输条件	低温
有效期	12 个月
激发/发射波长	484/501nm

产品介绍

DiO 是一种绿色荧光的脂溶性碳氰染料，被广泛用作脂溶性示踪剂。它在水中荧光较弱，但一旦嵌入膜中，荧光强度很高且具有相当好的光稳定性。它在脂质环境中具有极高的摩尔吸光系数和较短的激发态寿命（约 1 纳秒）。一旦应用于细胞，该染料会在细胞质膜内横向扩散。

试剂制备

染色液制备

（1）配置储液：储液用 DMSO 、无水 DMF 或 EtOH 配制，浓度 1~5 mM。DiO 在无水 DMSO 和无水 DMF 中的溶解度比在 EtOH 中的溶解度高。

注：a.未使用的储存液分装储存在-20℃，避免反复冻融；

b.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）稀释储液，配制浓度为 1~30 μM 的工作液。最常用的工作液浓度为 5-10 μM。

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。

实验步骤

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 1×10^6/mL。

（2）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℃预热的生长培养液重悬细胞。

（4）重复步骤（3）两次以上。

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 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。

备注：该试剂仅供科研使用！