

DiO (DiOC18(3)) 细胞膜绿色荧光探针

产品简介

DiI, DiO, DiD 和 DiR 作为一类长链的亲脂性二烷基碳菁类染料 (Dialkylcarbocyanines) 荧光染料家族, 用于标记细胞膜以及其他脂溶性生物结构。作为一类环境敏感型荧光染料, 当它们与膜结合或者与亲脂性生物分子 (例如蛋白质, 虽然在水中其荧光强度很弱) 结合时, 其荧光强度显著增强。一旦进入细胞后, 它们在细胞内质膜中逐步扩散, 于最佳浓度条件下可将整个细胞均匀染色。这些染料具有很高的淬灭系数, 偏光依赖性和很短的激发寿命。四种染料呈现不同的荧光颜色, DiI (橙色荧光)、DiO (绿色荧光)、DiD (红色荧光)、DiR (深红色荧光), 为活细胞多色彩荧光成像分析和流式细胞术提供了一种便捷的工具。DiO 和 DiI 分别用标准 FITC 和 TRITC 滤光器检测, 可结合使用。DiD 可被 633 nm 氦-氖 (He-Ne) 激光激发, 具有比 DiI 更长的激发和发射光波长, 特别适用于标记具本底荧光的细胞和组织。而, DiR 在体内活体成像或者示踪中意义非凡, 因其所发射的红外光可以高效地穿过细胞和组织, 并且在红外光范围内, 其本底荧光水平很低。

本品以 DiO 的高氯酸盐形式提供, 纯度 $\geq 98\%$, 适用于荧光检测研究。

产品组成

名称	FS1189	FS1189	Storage
DiO (DiOC18(3)) 细胞膜绿色荧光探针	10mg	25mg	-20℃避光干燥保存
使用说明书		1份	

基本特性

CAS: 34215-57-1

同义名: DiO perchlorate; DiOC18(3); 3,3-Dioctadecyloxacarbo-cyanine perchlorate;

化学名: Benzoxazolium, 3-octadecyl-2-[3-(3-octadecyl-2(3H)-benzoxazolylidene)-1-propenyl]-, perchlorate

分子式: C₅₃H₈₅ClN₂O₆

分子量: 881.72 g/mol

纯度: $\geq 98\%$

Ex/Em: 484/501 nm (甲醇)

外观: 橙黄至橙色固体

溶解性: 溶于 DMF, DMSO, 甲醇, 乙醇

储存条件: -20℃干燥保存, 1年有效。

推荐滤光器: Omega-XF100, XF23, Chroma-41001, 31001

使用方法【注意】以下使用方法仅用作参考, 可根据具体的实验条件做出调整。

1. 染色液制备

1) 储存液制备: 用 DMSO 或乙醇配置浓度 1~5 mM 的储存液。例如, 取 25mg DiO (Mw: 881.72 g/mol) 溶于 5.67ml 无水 DMSO 中, 充分溶解, 即得到 5mM 的储存液。【注意】未使用的储存液分装储存在-20℃,

避免反复冻融，且要避光保存。

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，调整到 1~5 μM 的工作浓度。【注意】工作液最终浓度需要根据不同细胞系和实验体系来优化。建议从推荐浓度开始，以 10 倍范围为区间进行最优浓度的摸索。

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 $1 \times 10^6 / \text{mL}$ 。
- 2) 37°C 孵育细胞 2~20min，不同的细胞最佳培养时间不同。可以 20min 作为起始孵育时间，之后优化以保证得到均一化的标记结果。
- 3) 孵育结束，按 1000~1500 rpm 离心 5min。
- 4) 去除上清液，之后轻柔加入 37°C 预热的生长培养液重悬细胞。
- 5) 再重复 3)，4) 步骤两次。

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，滤掉过量培养液，将盖玻片放在潮湿的小室内。
- 3) 在盖玻片的一角加入 100 μL 的染色工作液，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。
- 4) 37°C 孵育细胞 2~20min，不同的细胞最佳培养时间不同。可以 20min 作为起始孵育时间，之后优化以保证得到均一化的标记结果。
- 5) 吸掉染色工作液，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 5~10min，然后吸走培养基。
- 2) 多色染料的同时检测，滤光器按照以下设定：
 - a) DiI 和 DiO=Omega XF52, Chroma 51004;
 - b) DiI 和 DiD=Omega XF92, Chroma 51007;
 - c) DiI, DiO 和 DiD=Omega XF93, Chroma 61005;

4. 显微镜检测

附表 DiD, DiO, DiI, DiR 和 DiA 光谱特征汇总表

货号	荧光探针	最大激发/最大发射波长 (Ex/Em)	滤光片编号*	
			Omega 公司	Chroma 公司
FS1190-10MG	DiI	549/565 nm	XF108, XF32	41002, 31002
FS1189-10MG	DiO	484/501 nm	XF100, XF23	41001, 31001
FS1192-25MG	DiD	644/663 nm	XF110, XF47	41008, 31023
FS1193-25MG	DiR**	748/780 nm	XF112	41009
FS1194-25MG	DiA	491/613 nm	XF21	31024

5. 流式细胞仪检测

经 DiO, DiI, DiD 和 DiR 染色的细胞分别用流式细胞仪的 FL1, FL2, FL3 或 FL4 通道检测。

注意事项

- (1) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- (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。