

使用说明书

Instruction Manual

DiO 染色液

DiO Staining Solution

产品描述

DiO (3,3'-Diocetadecyloxacarbocyanine perchlorate) 是一种常用的亲脂性荧光染料。DiO 分子中的长链烷基具有强疏水性，可与生物膜的磷脂双分子层通过疏水作用紧密结合，进入细胞膜后可以侧向扩散逐渐染色整个细胞的细胞膜。未结合膜的游离 DiO 分子荧光强度较低，当 DiO 与膜结合后，其分子构象发生变化，荧光强度大大增强，被激发后发绿色荧光（最大激发波长 484 nm，最大发射波长 501 nm）。

产品信息

DiO 染色液	
Ingredient	DiO
CAS	34215-57-1
Conc.	5 mM
Solvent	DMSO

产品特点

1. 细胞膜标记特异性强，膜定位精准。
2. 染料分子排列于细胞膜外层，不破坏膜结构，适合研究膜的天然状态。
3. 细胞毒性低，适用于活细胞标记研究。
4. 荧光信号稳定，抗光漂白能力突出，适合长时间标记。
5. 适用性广，能用于多种样本类型。
6. 操作简便，检测快速。

产品应用

活细胞追踪（细胞迁移、融合、分裂、黏附）、膜流动性分析、细胞分化路径示踪、细胞-细胞相互作用研究、药物递送系统检测。

工作液配制

用适宜稀释液（无血清培养基、PBS 或 HBSS）将 DiO 储备液稀释成染色工作液（1-30 μ M）。具体的 DiOI 工作液浓度应根据实验情况调整，一般用于细胞膜荧光标记的常用工作浓度为 5-10 μ M。

使用说明

1. 悬浮活细胞染色

- (1) 取对数生长期的悬浮细胞，1000 rpm 室温离心 5 min，弃上清。加 PBS 重悬，1000 rpm 室温离心 5 min，弃上清。
- (2) 用 37°C 预热的培养基重悬，调整细胞密度至 1×10^6 - 5×10^6 cells/mL。
- (3) 按细胞悬液体积的 1/10 倍加入 DiO 工作液，轻柔混匀，在 37°C 避光孵育 5-20 min。
- (4) 1000 rpm 离心 5 min，弃上清。用 37°C 预热的细胞培养基洗涤细胞 2-3 次，再重悬细胞。
- (5) 用流式细胞仪检测，或将细胞悬液滴在载玻片上，盖上盖玻片后，置于荧光显微镜下观察。Ex=484 nm, Em=501 nm 左右。

2. 贴壁活细胞染色

- (1) 吸去培养液，用 37°C 预热的细胞培养基洗涤细胞 1 次。
- (2) 向细胞加入适量 DiO 染色工作液，需要使染液覆盖住所有细胞，于 37°C 避光染色 5-20 min。
- (3) 吸除 DiO 工作液，用 37°C 预热的细胞培养基洗涤 2-3 次，每次 5 min。
- (4) 加入 37°C 预热的细胞培养基覆盖住细胞，置于荧光显微镜下观察。Ex=484 nm, Em=501 nm 左右。

储存条件

-20°C 避光保存，一年有效。

注意事项

1. DiO 染色液对活细胞染色时建议在 37°C，对固定细胞或组织染色时可在常温。若需对细胞或组织固定，通常建议选用 4% 多聚甲醛作为固定液。
2. 悬浮细胞染色期间，建议每隔 10 min 轻晃离心管，防止细胞沉降聚集，影响染色均匀性。
3. 由于样本类型和实验环境的不同均会影响染色效率，建议通过预实验来优化工作液浓度和染色时间。
4. DiO 在水溶液中稳定性差，长时间放置易聚集，荧光效率也会下降，建议 DiO 工作液现用现配。
5. 对数生长期细胞活性高、膜流动性好，建议选择对数生长期细胞进行染色，避免使用衰老或密度过高的细胞（膜功能受损会影响染料结合）。
6. 本品仅适用于专业科研用途，严禁用于临床诊断、治疗、食品或药品领域，且不得存放于住宅等非专业场所。
7. DiO 为脂溶性染料，可通过皮肤接触危害健康，为保障操作安全与人员健康，操作时请务必穿戴实验服并佩戴一次性手套。

