

DiOC6(3) 膜电位荧光探针

Cat NO : IMFP-I008

产品简介

DiOC6(3), 英文全名 3, 3, -Dihexyloxacarbocyanine iodide, CAS NO, 53213-82-4, 是一种具细胞膜渗透性、发绿色荧光的亲脂性染料。作为一种膜探针, DiOC6(3)在高浓度下能对活细胞和固定细胞的内质网(高尔基体)染色, 也能对线粒体膜和线粒体染色。而在更低浓度下, 偏向选择性染色线粒体。DiOC6(3)能用来标记活细胞, 然而, 由于光动力学毒性会快速破损, 经其标记的细胞仅能短时间暴露在光下。神经元和酵母细胞中, DiOC6(3)曾用来研究内质网(ER)结构的相互作用和动力学;当染料浓度提高或在某些呼吸缺陷的酵母菌株内, DiOC6(3)能特异性染酵母核膜, 而且具有足够灵敏性来揭示核膜(已知称为 karmelae)的变化。

产品信息

表 1.组成信息

产品名称	产品规格	储存条件	保质期
DiOC6(3) 膜电位荧光探针	20mg	-20℃	12 个月

使用说明

1、染色液制备

(1) 储存液制备:用 DMSO 或无水乙醇配置浓度 1-5mM 的储存液。例如, 取 10mg DiOC6(3)(Mw:572.52 g/mol)溶于 3.49mL 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。

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 1-5M 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 1000-1500rpm 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 $100 \mu\text{L}$ 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。

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。

4、显微镜检测

(1) DiD, DiO, DiI, DiR 滤光器的选择参见下表:

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
DiI	549/565nm	XF108, XF32	41002, 31002
DiOC18 (3)	484/501nm	XF100, XF2341001, 31001	41001, 31001
DiOC6 (3)	484/501nm	XF100, XF2341001, 31001	41001, 31001
DiD	644/665nm	XF110, XF47	41008, 31023
DiR	750/780nm	XF112	41009

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、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 3、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。