

产品说明书

DiI(细胞膜橙红色荧光探针)

产品货号: D4010

产品规格: 10 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、DMF、DMSO的深红色固体

Ex/Em (MeOH) = 549/565 nm

CAS 号: 41085-99-8

分子式: C59H97ClN2O4

分子量: 933.9

分子结构图:

储存条件

-20℃避光保存,有效期见外包装。

产品介绍

DiI 即 DiIC18(3),全称为 1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'tetra- methylindocarbocyanine perchlorate,是最常用的细胞膜荧光探针之一,呈现橙红色荧光。DiI 是一种亲脂性膜染料,进入细胞膜后可以侧向扩散逐渐染色整个细胞的细胞膜。DiI 在进入细胞膜之前荧光非常弱,仅当进入到细胞膜后才可以被激发出很强的荧光。常与 DiA 一起用于细胞膜双色标记。

DiI 作为示踪剂或长期示踪剂(long-term tracer),可以被广泛用于正向或逆向、活的或固定的神经等细胞或组织。DiI 通常不会影响细胞的生存力(viability)。被 DiI 标记的神经细胞在体外培养的条件下可以存活长达 4 周,在体内可以长达一年。DiI 在被固定的神经元细胞膜上的迁移速率为 0.2-0.6 mm/day,在活的神经元细胞膜上的的迁移速率为 6 mm/day。

Dil 除了用于细胞膜荧光标记外,还可用于检测细胞的融合和粘附、发育或移植过程中细胞的迁移,通过 FRAP(光脱色荧光恢复技术)检测脂在细胞膜上的扩散,检测细胞毒性和标记脂蛋白等。

DiI 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。

以每次使用 100 μL 染色工作液,染色工作液浓度 10 μM 计算, 10 mg 配置为工作液大概可以用 10707 次。

使用方法

1. 染色液制备

- (1) 配制储液: 储液用无水 DMSO 或 EtOH 配制, 浓度 1~10 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)稀释储液,配制浓度为 1~10 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℃解育细胞 $5\sim20\,\mathrm{min}$,不同的细胞最佳培养时间不同。可以 $20\,\mathrm{min}$ 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。

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, 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℃解育细胞 $5\sim20\,\mathrm{min}$,不同的细胞最佳培养时间不同。可以 $20\,\mathrm{min}$ 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。

4. 结果检测

样品可在培养基中进行检测,可通过荧光显微镜成像或流式细胞仪分析。

注意事项

- 1. 使用前请将产品瞬时离心至管底,再进行后续实验。
- 2. DiI 染色固定的细胞或组织样品时,通常使用配制在 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。
- 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。
- 4. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

