

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 μ L 染色工作液，染色工作液浓度 10 μ M 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°C，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 μ M 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 1×10^6 /mL。

（2）37°C 孵育细胞 5~20 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。倾倒入上清液，再次缓慢加入 37°C 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 μ L 的染料工作液，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。

（4）37°C 孵育细胞 5~20 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。

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。

