

# 产品说明书

## DiD (细胞膜红色荧光探针)

产品货号: D4019

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 和 DMSO 的深蓝色固体

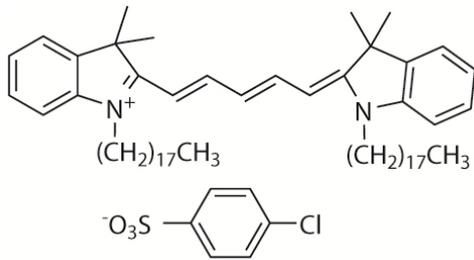
Ex/Em (MeOH) = 644/663 nm

CAS 号: 362596-00-7

分子式:  $C_{67}H_{103}ClN_2O_3S$

分子量: 1052.1

分子结构图:



## 储存条件

-20°C避光保存, 有效期见外包装。

## 产品介绍

DiD 染料是亲脂性荧光染料家族成员之一, 它可以用来染细胞膜和其它脂溶性生物结构。当 DiD 与细胞膜结合后其荧光强度大大增强, 这类染料有着很高的淬灭常数和激发态寿命。一旦对细胞染色, 这类染料在整个细胞膜上扩散, 最佳浓度时可以使整个细胞膜染色。DiD (远红色荧光) 可以用来对活细胞进行成像和流式分析。DiD 可以用 633 nm He-Ne 激光器激发, 有着比 DiI (一种常见的细胞荧光染料) 更长的激发波长和发射波长, 在细胞和组织染色中更有价值。

DiD 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  $\mu$ L 染色工作液, 染色工作液浓度 5  $\mu$ M 计算, 10 mg 配置为工作液大概可以用 19009 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 1~5 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 1~5 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  $1 \times 10^6$ /mL。

(2) 37°C 孵育细胞 2~20 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 μL 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 2~20 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. DiD 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。

