

产品说明书

产品名称: DiD(DiIC18(5))

产品货号: BN14019

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

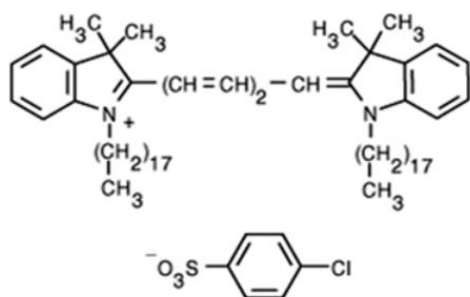
CAS 号: 127274-91-3

$\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}(\text{MeOH}) = 644/663 \text{ nm}$

分子式: $\text{C}_{67}\text{H}_{103}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$

分子量: 1052.1

分子结构图:



贮存条件

-20°C 避光保存, 保质期 12 个月。

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。

使用方法

1. 染色液制备

(1) 配置 DMSO 或 EtOH 储存液: 储存液用 DMSO 或 EtOH 配置浓度 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) 稀释储存液, 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 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 。

(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结果。

(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. 贴壁细胞的染色

(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, 但表面要保持湿润。

(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结果。

(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，可以通过荧光显微镜成

像或流式细胞仪分析。

注意事项

1. DiD 染色固定的细胞或组织样品时，样品宜使用配制在 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。
2. 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。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。