

DiI 细胞膜橙色荧光探针 C0022

描述: DiI 即 DiIC18(3), 全称为 1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine 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使整个细胞的细胞膜被染色。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。DiI 被激发后可以发出橙红色的荧光, DiI 和磷脂双层膜结合后的激发光谱和发射光谱。其中, 最大激发波长为 549nm, 最大发射波长为 565nm。DiI 可以溶解于无水乙醇、DMSO 和 DMF, 溶解度约为 1-2.5mg/ml。发现较难溶解时可以适当加热, 并用超声处理以促进溶解。用于细胞膜荧光标记时, DiI 的常用浓度为 1-25 μ M, 最常用的浓度为 5-10 μ M。DiI 可以直接染色活的细胞或组织, 染色时间通常为 5-20 分钟。对于固定的细胞或组织, 通常宜使用配制在 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。

规格: 10mg

保存: -20 $^{\circ}$ C 干燥避光保存, 有效期一年。

使用方法:

DiI 细胞膜染色液制备

- (1) 配置 DMSO 或 EtOH 储存液: 储存液用 DMSO 或 EtOH 配置浓度 1~5 mM。
- (2) 注意: 未使用的储存液保存在 -20 $^{\circ}$ C, 避免反复冻融。
- (3) 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 μ M 的工作液。

注意: 工作液的最终浓度是根据不同细胞和实验的经验来配制。可以从推荐浓度的十倍以上寻找最佳条件。

2. 悬浮细胞染色

- (1) 悬浮细胞密度为 1×10^6 /mL 加入到工作液中。
- (2) 在 37 $^{\circ}$ C 培养细胞 2~20 分钟, 不同的细胞最佳培养时间不同。
- (3) 染色细胞试管在 1000~1500 转离心 5 分钟。
- (4) 倾倒上清液, 再次缓慢加入预温 37 $^{\circ}$ C 的培养液。
- (5) 重复(3), (4)步骤两次以上。

3. 粘壁细胞的染色

- (1) 使粘壁的细胞在无菌实验室培养。
- (2) 从培养基中移走盖玻片, 吸走过量培养液, 将盖玻片放在潮湿的环境中。

- (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) 在 37 $^{\circ}$ C 培养细胞 2~20 分钟, 不同的细胞最佳培养时间不同。
- (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, 培养 5~10 分钟, 然后吸干培养基。

4. 显微镜检测

多色染料的同时检测, 滤光器按照以下设定: a) DiI 和 DiO=Omega XF52, Chroma 51004; b) DiI 和 DiD=Omega XF92, Chroma 51007; c) DiI, DiO 和 DiD=Omega XF93, Chroma 61005

5. 流式细胞仪的检测 DiD, DiO, DiI, DiR 和 DiS 染色的细胞可以分别用经典的 FL1, FL2, FL3 和 FL4 流式细胞仪检测。