

产品说明书

DiA (细胞膜绿色荧光探针)

产品货号: D4059

产品规格: 50 mg

应用范围: 细胞膜荧光染料, 主要用于细胞成像, 细胞示踪和追踪

产品参数

外观: 可溶于 DMSO 的红色固体

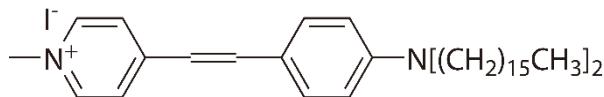
Ex/Em (MeOH) = 491/613 nm

CAS 号: 114041-00-8

分子式: C₄₆H₇₉IN₂

分子量: 787.0

分子结构图:



储存条件

4°C避光保存, 有效期见外包装。

产品介绍

DiA 是一种细胞膜绿色荧光染料, 它在细胞膜中的扩散速度比 DiO 快, 并且经常和 DiI 一起使用于细胞膜双色标记。

DiA 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。DiA 对固定细胞的染色效果比 DiO 好。

以每次使用 100 μL 染色工作液, 染色工作液浓度 10 μM 计算, 50 mg 配置为工作液大概可以用 63532 次。

使用方法

1. 染色液制备

(1) 配制储液: 储液用无水 DMSO、无水 DMF 或 EtOH 配制, 浓度 1~5 mM。DiA 在无水 DMSO 和无水 DMF 中的溶解度比在 EtOH 中的溶解度高。

注: a.未使用的储存液分装储存在-20°C, 避免反复冻融;

b.发现较难溶解时可以适当加热, 并用超声处理以促进溶解。

(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 1~30 μM 的工作液。最常用的工作液浓度为 5-10 μM。





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. DiA 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。
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。

