

DiD (细胞膜红色荧光探针)

产品介绍

DiD (DiI18(5), 1,1'-Dioctadecyl-3,3,3',3'-Tetramethylindodicarbocyanine,4-Chlorobenzenesulfonate Salt) 染料是亲脂性蒽花青类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 是 DiI 类似物，可以用 633 nm He-Ne 激光器激发，有着比 DiI (一种常见的细胞膜荧光染料) 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。

在固定透化 (室温下用 0.1% TritonX-100 透化) 后，可以用 DiD 进行质膜染色，也可以在 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。DiD 激发发射光谱图见产品参数。

以每次使用 100 μ L 染色工作液，染色工作液浓度 5 μ M 计算，10 mg 配置为工作液大概可以用 19009 次。

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

产品货号

D4019

储运条件

-20°C 避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

稳定性好： 荧光亮度强且抗淬灭性好，可以在细胞内很好的保留，适合细胞示踪；

批间差小： 产品为公司自研，批间差控制的好；

使用方便： 可搭配我司其它试剂使用，方便灵活。

产品组分

| 组分 | D4019 |
|--------|-------|
| A. DiD | 10 mg |

产品参数

外观： 可溶于乙醇、DMF 和 DMSO 的深蓝色固体

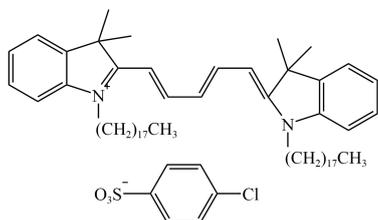
Ex/Em: 644/663 nm (MeOH)

CAS 号： 362596-00-7

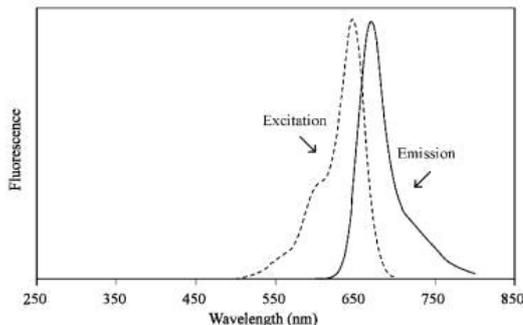
分子式： C₆₇H₁₀₃ClN₂O₃S

分子量： 1052.1

分子结构图：



光谱图：



注意事项

1. 本品是粉末状或者沾壁固体，这是由于生产工艺的不同导致的，不影响使用；使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
2. 荧光染料均存在淬灭问题，实验操作时请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
3. 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。
4. 本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1. 耗材
(1) 离心管 (2) 盖玻片
2. 试剂
(1) 无水 DMSO 或无水 EtOH (2) 无血清培养基或 HBSS 或 PBS (3) 培养基 (预温)
3. 仪器
荧光显微镜或流式细胞仪

操作步骤

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。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：红色光激发，荧光显微镜滤光片可以选择 Cy5 滤光片；流式细胞仪选择 RL1 (FL4) 通道。

FAQ

1. 问：细胞膜染料溶解度多少合适？是否有推荐？

答：不同的细胞膜染料溶解度不同，请根据相应的说明书进行溶解。下面是常用细胞膜染料的溶解度供参考。

(1)DiO (货号：D4007) 在 DMSO 中溶解度是 5 mg/mL (需要进行超声 1~1.5 h 和 60°C 加热助溶)；在 DMF 中溶解度是 10 mg/mL (需要超声助溶)。

(2)DiA (货号：D4059) 在 DMSO 中溶解度是 2 mg/mL (需要进行超声 1~1.5 h 和 60°C 加热助溶)。

(3)DiD (货号：D4019) 在 DMSO 中溶解度是 25 mg/mL (需要进行超声 1~1.5 h 和 60°C 加热助溶)。

(4)DiI (货号：D4010) 在 DMSO 中溶解度是 12.5 mg/mL (需要进行超声 1~1.5 h 和 60°C 加热助溶)。

(5)DiR (货号：D4006) 在 DMSO 中溶解度是 10 mg/mL (需要进行超声 1~1.5 h 和 60°C 加热助溶)。

此外，请注意 DMSO 受潮问题可能会影响溶解度，请尽量使用新开封的 DMSO。

2. 问：Di 系列染料染色细胞后，用 4% 多聚甲醛固定和 0.1% TritonX-100 透化后，染色亮度低的原因是什么？

答：Di 系列的细胞膜染料均是亲脂类染料。经 TritonX-100 进行透化处理后，磷脂双分子层被破坏，影响 Di 系列染料与细胞膜的结合导致染色亮度变低。Di 系列的染料较推荐活细胞的细胞膜染色。

同系列产品

| 产品货号 | 产品名称 | 选购指南 |
|-------|----------------------------------|--|
| D4007 | DiO (细胞膜绿色荧光探针) | 细胞膜、外泌体染色，(长期) 示踪剂，较推荐活细胞 |
| N4021 | DiO Plus (细胞膜绿色荧光探针升级版) | 细胞膜染料，细胞膜上染料横向迁移率低，溶解性更好，较推荐活细胞 |
| D4019 | DiD (细胞膜红色荧光探针) | 细胞膜、外泌体染色，(长期) 示踪剂，活体成像，不易淬灭，较推荐活细胞 |
| C4050 | CytoMBrute™ 细胞膜红色荧光探针 | 可参考 D4019 |
| D4006 | DiR (细胞膜近红外荧光探针) | 细胞膜、外泌体染色，示踪剂，更多用于活体成像，细胞间染料转移率低，较推荐活细胞 |
| C4044 | CytoMBrute™ 细胞膜近红外荧光探针 | 可参考 D4006 |
| D4010 | DiI (细胞膜橙红色荧光探针) | 细胞膜染料，(长期) 示踪剂，与 DiA 常连用进行双色标记，较推荐活细胞 |
| C4049 | CytoMBrute™ 细胞膜橙红色荧光探针 | 可参考 D4010 |
| C4060 | Cell Tracker CM-DiI (细胞膜橙红色荧光探针) | 细胞膜染料，示踪剂，72 h 荧光稳定，推荐活细胞或者醛固定的细胞 |
| D4053 | Dilinoleyl DiI (细胞膜橙红色荧光探针) | 细胞膜染料，广泛用于神经元组织示踪，横向扩散效率较 DiI 高，较推荐活细胞 |
| D4059 | DiA (细胞膜绿色荧光探针) | 细胞膜染色，相较于 DiO 细胞膜扩散效率高，常与 DiI 进行膜双色标记，较推荐活细胞 |