

## DiA (细胞膜绿色荧光探针)

### 产品介绍

DiA (4-Di-16-ASP) 是一种亲脂性氨基苯乙烯基探针，它在细胞膜中的扩散速度比 DiO 快，经常和 DiI 一起使用于细胞膜双色标记，用于神经元膜示踪。

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。DiA 对固定细胞的染色效果优于 DiO。激发发射光谱图请见产品参数。

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。

### 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

D4059

### 储运条件

4°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；

**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；

**扩散速度快：** 扩散速度快，广泛应用于神经元组织追踪等。

### 产品组分

组分	D4059
A. DiA	50 mg

### 产品参数

**外观：** 可溶于 DMSO 的红色固体

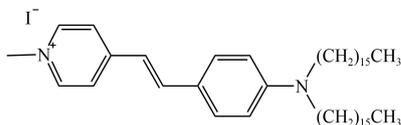
**Ex/Em:** 456/590 nm (MeOH)

**CAS号:** 114041-00-8

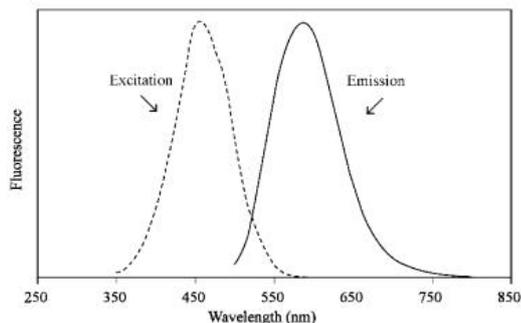
**分子式:** C<sub>46</sub>H<sub>79</sub>IN<sub>2</sub>

**分子量:** 787.0

**分子结构图:**



**光谱图:**



### 注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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 或无水 DMF (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、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：1) 未使用的储存液分装储存在 -20°C，避免反复冻融；

2) 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 1×10<sup>6</sup>/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 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 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：绿光激发，荧光显微镜滤光片可以选择 FITC (绿色) 或者 Cy3 (橙红色) 或者 Cy3.5 (深红色) 滤光片；流式细胞仪选择 BL1 (FL1) 或者 BL2 (FL2)。

## 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，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	CytoMBrite™ 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	CytoMBrite™ 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	CytoMBrite™ 细胞膜橙红色荧光探针	可参考 D4010
C4060	Cell Tracker CM-Dil (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