

## CytoMBrite™ 细胞膜红色荧光探针

### 产品介绍

CytoMBrite™ 细胞膜红色荧光探针 (DiD) 是一种亲脂性碳菁类染料，能够有效、稳定地标记质膜及细胞内膜结构。它具有细胞毒性低且不会在细胞间转移的特性，与 PKH 类染料相比，CytoMBrite 染料使用方便、着色均匀常被作为细胞融合、粘附、迁移的示踪分子。DiI (橙色荧光)、DiO (绿色荧光)、DiD (红色荧光) 和其它细胞膜荧光染料如 DiR (近红外荧光)、NIR680 (远红外染料) 配合使用，为多色成像和流式细胞分析提供了有效的工具。

CytoMBrite 系列染料也可以用于甲醛固定后细胞的染色，同时兼容在染色后的甲醛固定步骤。此系列染料不适用于细菌或酵母。激发发射光谱可参考 DiD，详情请见产品参数。

以每次使用 100  $\mu\text{L}$  染色工作液计算，200  $\mu\text{L}$  原液可以用 400 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

C4050

### 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

**毒性低：**毒性低，对细胞影响小；

**稳定性好：**适合细胞示踪，可以在细胞内很好的保留；

**信噪比高：**荧光亮度强、着色均匀且背景低；

**选择灵活：**提供多种细胞膜染色试剂，选择方便灵活。

### 产品组分

| 组分                    | C4050             |
|-----------------------|-------------------|
| CytoMBrite™ 细胞膜红色荧光探针 | 200 $\mu\text{L}$ |

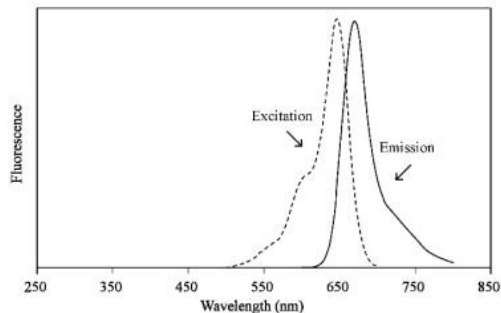
### 产品参数

**Ex/Em:** 644/663 nm (MeOH)

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

**分子量:** 1052.1

**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，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。

3. Di 系列染料为亲脂性染料，在水相中溶解度极低。若稀释步骤不当，染料极易聚集形成荧光微粒，吸附在细胞表面或玻片上。

4. Di 系列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。

5. 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。

6. 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) 无血清培养基或 HBSS 或 PBS (2) 培养基 (预温)

3. 仪器

荧光显微镜或流式细胞仪

### 操作步骤

工作液最终浓度建议根据不同细胞系和实验体系来优化。建议从推荐稀释比例的 10 倍范围内开始最优浓度的摸索。

#### 1. 悬浮细胞染色

(1) 加入适当体积的培养基重悬细胞，使其密度为  $1 \times 10^6/\text{mL}$ ，再按 1:200 的比例加入染色原液。

**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) 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。弃上清液，再次缓慢加入 37°C 预热的培养基重悬细胞。重复两次。

#### 2. 贴壁细胞染色

(1) 将贴壁细胞培养于无菌盖玻片上，培养结束后移出盖玻片，吸走过量培养液，但表面要保持湿润。

(2) 配制染色工作液：每 1 mL 培养基中加入 5  $\mu\text{L}$  染色原液，涡旋混匀。

(3) 在盖玻片的一角加入 100  $\mu\text{L}$  的染色工作液，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。

#### 3. 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：染色发现背景有杂点的可能原因？且细胞大部分未染色，有什么好的改进方法吗？

答：考虑是染料稀释成工作液时发生聚集，溶解度问题导致。细胞膜染料为亲脂性染料，水溶解度不是很好，稀释成工作液时建议(1) 储液稀释成工作液时尽快振荡混匀；(2) 提前将稀释需要的液体如 PBS 水浴温热至 37°C，超声促进溶解；(3) 可用 10000 g 离心 2 min 检查底部是否无明显颗粒，若有，说明稀释时染料发生聚集，该工作液需加热超声助溶。若仍然有杂点，稀释工作液时可以加入 0.25 mM  $\beta$ -环糊精与 0.04% F-127 促溶（使染料本身更稳定）。

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。

3. 问：细胞追踪有很多产品，该如何选择？

答：可以先确定需要追踪细胞的时长，再结合染料的结合机制选择：

(1) 钙黄绿素染料（C4041）标记均匀，对短期细胞迁移示踪效果极佳，但会被部分细胞迅速外排。

(2) 亲脂性花青素染料，如 Dil (D4010) , DiO (D4007) , DiA (D4059) , DiD (D4019) , DiR (D4006)能标记细胞膜而不破坏其功能，并且能持续更长时间，但如果发生膜融合则可能会染上其他细胞。此外，它们还会在透化过程中丢失。

(3) Cell Tracker 染料（C4060）更适合长期标记，它带有温和的氯甲基反应基团，能够与细胞组分共价结合。

(4) CFDA SE(4070)也可以和细胞组分共价结合。

上述所有试剂在细胞内的保留情况，取决于细胞分裂速率和细胞固有特性，包括主动外排能力、膜及蛋白质周转率等。共价结合试剂的细胞内保留时间明显长于非共价结合试剂。

4. 问：按照原液 1：200 稀释成染色工作液，染色 20min，发现没有染上所有的细胞膜？

答：不同的细胞系跟染料亲和力不同，我们推荐按照说明书中 10 倍梯度摸索，说明书中推荐 1：200 加入，建议客户加大用量，按照 1：50，1：25，1：10 加入，另外延长孵育时间，增加至 25-30min。

## 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款）          | 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 | Dil（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 Dil（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 Dil 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 Dil 进行膜双色标记，较推荐活细胞 |