

Dil (细胞膜橙红色荧光探针)

产品介绍

Dil 即 DilC18(3), 全称为 1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetra-methyl indocarbocyanine perchlorate, 是常用的细胞膜荧光探针之一, 呈现橙红色荧光。Dil 是一种亲脂性膜染料, 进入细胞膜后可以侧向扩散逐渐染色整个细胞的细胞膜。Dil 在进入细胞膜之前荧光非常弱, 当进入到细胞膜后才可以被激发出很强的荧光。

Dil 作为示踪剂或长期示踪剂 (Long-Term Tracer), 可以被广泛用于正向或逆向、活的或固定的神经等细胞或组织。Dil 通常不会影响细胞的生存力 (viability)。被 Dil 标记的神经细胞在体外培养的条件下可以存活长达 4 周, 在体内可以长达一年。Dil 在被固定的神经元细胞膜上的迁移速率为 0.2~0.6 mm/day, 在活的神经元细胞膜上的迁移速率为 6 mm/day。

Dil 除了用于细胞膜荧光标记外, 还可用于检测细胞的融合和粘附、发育或移植过程中细胞的迁移, 通过 FRAP (光脱色荧光恢复技术) 检测脂在细胞膜上的扩散, 检测细胞毒性和标记脂蛋白等。

在固定透化 (室温下用 0.1% TritonX-100 透化) 后, 可以用 Dil 进行质膜染色, 也可以在 Dil 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。Dil 常与 DiA 一起用于细胞膜双色标记。

以每次使用 100 μ L 染色工作液, 染色工作液浓度 10 μ M 计算, 则 10 mg 配制为工作液大概可以用 10707 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

D4010

储运条件

-20°C 干燥避光保存, 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, 可以在细胞内很好地保留;

批间差小: 公司自研产品, 批间差稳定;

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	D4010
Dil	10 mg

产品参数

外观: 可溶于乙醇、DMF、DMSO 的深红色固体

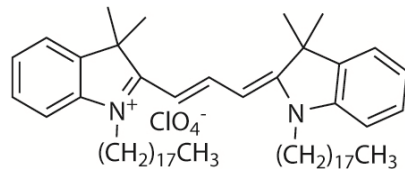
Ex/Em: 549/565 nm (MeOH)

CAS号: 41085-99-8

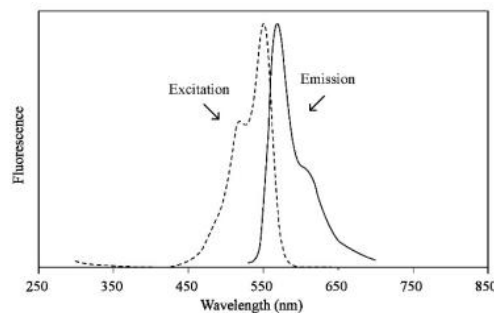
分子式: C₅₉H₉₇ClN₂O₄

分子量: 933.9

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。
- 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。
- 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。
- 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

- 耗材
(1) 离心管 (2) 盖玻片
- 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)
- 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。如果后续染色效果不佳, 可以稀释工作液时加入 0.25 mM β -环糊精与 0.04% F-127 促溶, 使染料本身更稳定。

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

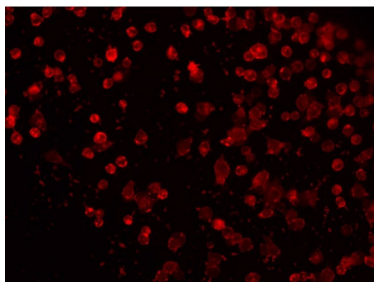
- (1) 将贴壁细胞培养于无菌盖玻片上。
- (2) 从培养基中移走盖玻片，吸走过量培养液，但要使表面保持湿润。
- (3) 在盖玻片的一角加入 100 μ L 的染料工作液，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。
- (4) 37°C 孵育细胞 5~20 min，不同的细胞最佳培养时间不同。可以 20 min 作为起始孵育时间，之后优化体系以得到均一的标记效果。
- (5) 吸干染料工作液，用培养液洗盖玻片 2~3 次，每次用预温的培养基覆盖所有细胞，孵育 5~10 min，然后吸干培养基。但要使表面保持湿润。

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：黄色光激发，荧光显微镜滤光片可以选择 Cy3 滤光片；流式细胞仪选择 YL1 通道。

染色效果图：悬浮细胞 K562



FAQ

1. 问：Di 系列细胞膜固体染料配制储液的溶解度多少合适？

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：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 β -环糊精与 0.04% F-127 促溶 (使染料本身更稳定)。

3. 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。

4. 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 DiI (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。

5. 问：在细胞膜和细胞核双染实验中，细胞膜染色用 DiI，细胞核染色用 DAPI，细胞固定后，先染色 DiI 还是先染色 DAPI？

答：先用 DiI 对细胞膜进行染色，后用 DAPI 染核。

6. 问：DiI 细胞膜染料，除了在 549nm 下有红光外，在 488nm 下有绿色吗？

答：该染料在 488nm 激发处，有微弱的激发，如果染料浓度太大或者曝光太强的话，会在 488nm 处有微弱的荧光，建议调整曝光和染料浓度。

7. 问：DiI 也可以染色细胞内的细胞器膜吗？

答：可以，因为 DiI 染色细胞膜是非特异性的，所以细胞器的膜也会被染上色，如果不想细胞器染色太明显，可以减少孵育时间或者染料浓度。

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-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