CM-DiI（细胞膜橙红色荧光探针）

使用方法

[注意]以下使用方法仅用作参考，可根据具体的实验条件做出调整。

1.染色液制备

1)储存液制备:用 DMF、DMSO 或乙醇配置浓度1-2mM 的储存液。例如，将50μgCM-DiI(Mw:1051.5g/mol)溶于48μl 无水 DMSO 中，充分溶解，即得到1mM 的储存液。【**注意**】未使用的储存液分装储存在-20℃，避免反复冻融，且避光干燥保存。

2)工作液制备:用合适的缓冲液(如:无血清培养基，HBSS 或 DPBS)稀释储存液，调整到1-2μM 的工作浓度。【**注意**】最佳的工作浓度需要根据不同细胞系和实验体系来优化。

2.细胞染色

1)于实验前准备好染色工作液:

2)加染色工作液进入特标记细胞，37℃孵育≤5min,然后再于4℃孵有15min。【低温孵育可降低细胞对染料的内吞作用，有助于染料对质膜的标记，并且降低染料定位细胞质囊泡的可能性。】

3)染色结束后，用 PBS 清洗细胞，并用新鲜培养基重悬细胞。

【**注意**】对于贴壁细胞，可直接在其贴壁状态下进行荧光标记，相较于消化处理后的细胞呈现更高活力。

3.细胞染色后处理

1)经 CM-DiI 染色后的细胞置于3.7%(w/v)多聚甲醛(溶于 PBS)，于

37℃固定10min；

2)室温条件，用 PBS 清洗2次，每次5min；

3)于-20C 中，用丙酮透化处理10min;

4)室温条件 PBS 清洗2次，每次5min；

5)之后根据自身的实验要求以及细胞类型，进行后续的实验如石蜡包埋-免疫组化分析，电镜分析等。资料显示，a)经 CM-DiI 染色后的 PC12 大鼠嗜铬细胞瘤细胞兼容于2%(w/v)多聚甲醛固定和0.2%(wv)Triton X-100的透化作用；b)经绵阳淋巴系统纯化的 CM-DiI 标记细胞，经甲醛固定，石蜡包埋，切片，二甲苯脱蜡，梯度乙醇，水化后仍能维持荧光；