上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

DiD（细胞膜红色荧光探针）

产品简介：

染料 DiD, DiI, DiO 和 DiR 是一类亲脂性荧光染料家族，用于标记细胞膜和疏水性组织。这是一类环境敏感型荧光染料，当它们与膜结合或者与亲脂性生物分子（例如蛋白质，虽然在水中其荧光强度很弱）结合时，其荧光强度显著增强。它们具有很高的淬灭系数，偏光依赖性和很短的激发寿命。一旦应用于细胞中，这种染料会在细胞内质膜中逐步扩散，导致在其最佳浓度条件下，将整个细胞膜染色。它们不同的荧光颜色：DiI（橙色荧光）、DiO（绿色荧光）、DiD（红色荧光）、DiR（深红色荧光），为活细胞多色彩荧光成像分析和流式细胞术提供了一种便捷的工具。

DiD（红色荧光）可以用来对活细胞进行成像和流式分析。DiD可以用633 nm He–Ne 激光器激发，有着比 DiI 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。

基本信息：

规格	10mg	产品形式	粉末
Ex(nm)	644	Em(nm)	663
分子量	959.91	溶剂	DMSO

产品应用标准实测：

本品配成 5mM 溶液后为深蓝色液体溶液澄清度且颜色检测无可见异物；然后进行荧光染色检测：工作条件：荧光显微镜，C6 细胞，400×，工作浓度 5μM。

结果：经细胞膜荧光染色，在40倍物镜下可看到清晰荧光。此浓度下在荧光显微镜下看到的荧光亮度亦足以用于共聚焦检测。

操作说明（仅供参考）

染色液制备

（1）配置DMSO或EtOH 储存液：储存液用 DMSO或EtOH配置浓度1～5 mM。

【注】未使用的储存液分装储存在-20℃，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）稀释储存液，配制浓度为1～5 μM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。

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 ℃孵育细胞 2～20min，不同的细胞最佳培养时间不同。可以20min作为起始孵育时间，之后优化体系以得到均一的标记结果。

（3）孵育结束，按1000～1500 rpm离心5min。

（4）倾倒上清液，再次缓慢加入37℃预热的生长培养液重悬细胞。

（5）重复（3），（4）步骤两次以上。

3. 贴壁细胞的染色

（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，将盖玻片放在潮湿的环境中。

（3）在盖玻片的一角加入100μL的染料工作液，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。

（4）37 ℃孵育细胞 2～20min，不同的细胞最佳培养时间不同。可以20min作为起始孵育时间，之后优化体系以得到均一的标记结果。

（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5～10min，然后吸干培养基。

4. 显微镜检测

DiD，DiO，DiI，DiR滤光器的选择参见表1。 DiD染色可见红色荧光。

5.流式细胞仪检测

DiO、DiI、DiD、DiR染色的细胞可以分别用经典的FL1，FL2，FL3和FL4流式细胞仪检测。

有效期：避光,-20° C，36个月。