

细胞膜荧光染料 使用说明书

产品编号:

产品编号	产品名称	CAS	分子式	分子量
CD4665	DiD Perchlorate	127274-91-3	$C_{61}H_{99}ClN_2O_4$	959.91
CD4666	Dil perchlorate	41085-99-8	$C_{59}H_{97}ClN_2O_4$	933.87
CD4663	DiO perchlorate	34215-57-1	$C_{53}H_{85}ClN_2O_6$	881.7
CD4672	DiR iodide	N/A	$C_{63}H_{101}IN_2$	1013.39

储存条件: -20℃干燥避光保存, 有效期一年。

产品描述

DiD, DiO, Dil, DiR和DiS染料是一族亲脂性的荧光染料, 可以用来染细胞膜和其它脂溶性生物结构。当与细胞膜结合后其荧光强度大大增强, 这类染料有着很高的淬灭常数和激发态寿命。一旦对细胞染色, 这类染料在整个细胞膜上扩散, 最佳浓度时可以使整个细胞膜染色。它们的荧光颜色区分明显: Dil (橙色荧光), DiO (绿色荧光), DiD (红色荧光) 和 DiR (深红色荧光) 这使得他们可以用来对活细胞进行多色成像和流式分析。Dil和DiO可以分别用标准的 FITC和TRITC的滤光片。DiD可以用 633 nm He-Ne 激光器激发, 有着比Dil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。DiR的红外荧光可以穿透细胞和组织, 在活体成像中用来示踪。

使用方法

1. 细胞膜染色液制备

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

注意: 未使用的储存液保存在-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 μ M 的工作液。

注意: 工作液的最终浓度是根据不同细胞和实验的经验来配制。可以从推荐浓度的十倍以上寻找最佳条件。

2. 悬浮细胞染色

(1) 悬浮细胞密度为 1×10^6 /mL加入到工作液中。

(2) 在37 °C培养细胞 2~20分钟，不同的细胞最佳培养时间不同。

(3) 染色细胞试管在1000~1500转离心5分钟。

(4) 倾倒上清液，再次缓慢加入预温37°C的培养液。

(5) 重复(3)，(4)步骤两次以上。

3. 粘壁细胞的染色

(1) 使粘壁的细胞在无菌实验室培养。

(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) 在37 °C培养细胞 2~20分钟，不同的细胞最佳培养时间不同。

(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，培养5~10分钟，然后吸干培养基。

4. 显微镜检测

(1) DiD, DiO, Dil, DiR和DiS滤光器的选择参见表1。

(2) 多色染料的同时检测，滤光器按照以下设定：

a) Dil和DiO=Omega XF52, Chroma 51004;

b) Dil和DiD=Omega XF92, Chroma 51007;

c) Dil, DiO和DiD=Omega XF93, Chroma 61005

5. 流式细胞仪的检测

DiD, DiO, Dil, 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。

细胞膜荧光染料对应波长与推荐滤光器：

产品编号	产品名称	Ex/Em	推荐滤光器*
CD4665	DiD Perchlorate	644/663 nm	XF47-Omega, 31023-Chroma
CD4666	Dil perchlorate	549/565 nm	XF32-Omega, 31002-Chroma
CD4663	DiO perchlorate	484/501nm	XF23-Omega, 31001-Chroma
CD4672	DiR iodide**	748/780 nm	XF112-Omega, 41009-Chroma

* Omega滤光器由Omega公司提供 (www.omegafilters.com); Chroma滤光器由Chroma公司提供 (www.chroma.com)。

**DiR的发射波长肉眼不可见，所以需要配备CCD镜头或其他的近红外检测仪器。