

产品说明书

产品名称: DiI(DiIC18(3))

产品货号: BN14010

产品规格: 10 mg

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

产品参数

外观: 可溶于乙醇、DMF、DMSO 的深红色固体

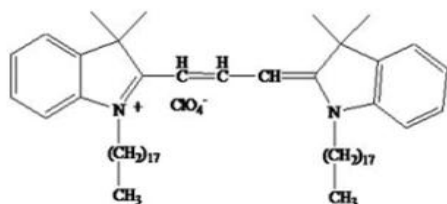
$\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}(\text{MeOH})=549/565\text{ nm}$

CAS 号: 41085-99-8

分子式: $\text{C}_{59}\text{H}_{97}\text{ClN}_2\text{O}_4$

分子量: 933.88

分子结构图:



贮存条件

-20°C 避光保存, 保质期 12 个月。

产品介绍

DiI 即 DiIC18(3), 全称为 1,1'-dioctadecyl-3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate, 是最常用的细胞膜荧光探针之一, 呈现橙红色荧光。DiI 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。DiI 在进入细胞膜之前荧光非常弱, 仅当进入到细胞膜后才可以被激发出很强的荧光。常与 DiA 一起用于细胞膜双色标记。

DiI 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。

DiI 通常不会影响细胞的生存力(viability)。被 DiI 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。DiI 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的迁移速率为 6 mm/day。

DiI 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(Fluorescence Recovery After Photobleaching)检测脂在细胞膜上的扩散, 检测细胞毒性和标记脂蛋白等。

DiI 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的过程。此外, 在固定透化(室温下用 0.1% TritonX-100 透化)后, 也可以很好地进行质膜染色。

使用方法

1. 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 1~10 mM。

注: 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) 稀释储存液, 配制浓度为 1~10 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。

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 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 。

(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结果。

(3) 孵育结束，1000~1500 rpm 离心 5 min。倾倒入清液，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，但表面要保持湿润。

(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 5~10 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，可以通过荧光显微镜成像或流式细胞仪分析。

注意事项

1. DiI 染色固定的细胞或组织样品时，样品宜使用配制在 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。

2. 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. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。