

Dil (DiI18(3))

产品描述

Dil, DiO, DiD 和 DiR 作为一类长链的亲脂性二烷基碳菁类染料 (Dialkylcarbocyanines) 荧光染料家族, 用于标记细胞膜以及其他脂溶性生物结构。作为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。一旦进入细胞后, 它们在细胞内质膜中逐步扩散, 于最佳浓度条件下可将整个细胞均匀染色。这些染料具很高的淬灭系数, 偏光依赖性和很短的激发寿命。

四种染料呈现不同的荧光颜色, Dil (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。DiO 和 Dil 分别用标准 FITC 和 TRITC 滤光器检测, 可结合使用。其中, Dil 及其衍生物由于极其低的细胞毒性, 应用最为广泛。不仅普遍用于活体和固定组织及细胞的神经元逆行性和顺行性示踪分析, 还可以用于检测细胞的融合和粘附, 检测发育或移植过程的细胞迁移, 通过 FRAP (荧光漂白恢复技术) 检测脂质在细胞膜上的扩散过程, 检测细胞毒性, 以及标记脂蛋白如 LDL 和 HDL 等。

Dil (DiI18(3)) 是一种亲脂性膜染料, 通常用作神经元和其它细胞的长期示踪剂。Dil 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橙红色荧光 ($\lambda_{ex}=549\text{ nm}$, $\lambda_{em}=565\text{ nm}$)。

Dil 基本特性:

- 1) 别名: Dil perchlorate; DiI18(3)
- 2) CAS NO: 41085-99-8
- 3) 分子式: C₅₉H₉₇ClN₂O₄
- 4) 分子量: 933.87 g/mol
- 5) 纯度: ≥99% (TLC)
- 6) 溶解性: 溶于 DMF, DMSO, 甲醇

- 7) 外观：红色至暗红色，紫色至深紫色粉末
- 8) Ex/Em: 549/565 nm (in phosphate buffer/SDS pH 7.0)
- 9) 推荐滤光器：Omega- XF108, XF32, Chroma-41002, 31002

保存与运输方法

保存：粉末：-20°C 避光保存，有效期 3 年；

溶剂中：-80°C 避光保存，有效期 1 年。

运输：冰袋运输。

溶液配制表

DMSO

	1mg	5mg	10mg	50mg
1 mM	1.0708 mL	5.3541 mL	10.7081 mL	53.5406 mL
5 mM	0.2142 mL	1.0708 mL	2.1416 mL	10.7081 mL
10 mM	0.1071 mL	0.5354 mL	1.0708 mL	5.3541 mL
20 mM	0.0535 mL	0.2677 mL	0.5354 mL	2.6770 mL

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 DMSO 或乙醇配置浓度 1 ~ 5 mM 的储存液。例如，取 5mg Dil (Mw: 933.87 g/mol) 溶于 1.07ml 无水 DMSO 中，充分溶解，即得到 5mM 的储存液。【注意】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，调整到 1 ~ 5 μ M 的工作浓度。【注意】工作液最终浓度需要根据不同细胞系和实验体系来优化。建议从推荐浓度开始，以 10 倍范围为区间进行最优浓度的摸索。

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 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，之后优化以保证得到均一化的标记结果。
- 3) 孵育结束，按 1000 ~ 1500 rpm 离心 5min。
- 4) 去除上清液，之后轻柔加入 37°C 预热的生长培养液重悬细胞。
- 5) 再重复 3)，4) 步骤两次。

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，滤掉过量培养液，将盖玻片放在潮湿的小室内。
- 3) 在盖玻片的一角加入 100 μL 的染色工作液，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。
- 4) 37°C 孵育细胞 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，之后优化以保证得到均一化的标记结果。
- 5) 吸掉染色工作液，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，然后吸走培养基。

4. 显微镜检测

- 1) DiD, DiO, DiI, DiR 和 DiS 滤光器的选择参见下表：

荧光探针	最大激发/最大发射波长 (Ex/Em)	滤光片编号	
		Omega 公司	Chroma 公司
DiI	549/565 nm	XF108, XF32	41002, 31002
DiO	484/501nm	XF100, XF23, 41001, 31001	41001, 31001
DiD	644/665 nm	XF110, XF47	41008, 31023

DiR	750/780 nm	XF112	41009
------------	------------	-------	-------

2) 多色染料的同时检测，滤光器按照以下设定：

- a) DiI 和 DiO = Omega XF52, Chroma 51004;
- b) DiI 和 DiD = Omega XF92, Chroma 51007;
- c) DiI, DiO 和 DiD = Omega XF93, Chroma 61005;

5、流式细胞仪检测

经 DiO, DiI, DiD 和 DiR 染色的细胞分别用流式细胞仪的 FL1, FL2, FL3 或 FL4 通道检测。

注意事项

- 1) 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。
- 2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。