

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01155

产品介绍

DiA 细胞膜荧光探针（绿色）是一种亲脂性氨基苯乙烯基探针，它在细胞膜中的扩散速度比 DiO 快，经常和 DiI 一起使用于细胞膜双色标记，用于神经元膜示踪。

DiA 细胞膜荧光探针（绿色）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。DiA 细胞膜荧光探针（绿色）对固定细胞的染色效果优于 DiO。激发发射光谱图请见产品参数。

以每次使用 100 μ L 染色工作液，染色工作液浓度 10 μ M 计算，50 mg 配置为工作液大概可以用 63532 次。

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

储运条件

4 $^{\circ}$ C 避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

稳定性好：荧光亮度强且抗淬灭性好，可以在细胞内很好的保留；

批间差小：产品为公司自研，批间差控制的好；

使用方便：可搭配我司其它试剂使用，方便灵活；

扩散速度快：扩散速度快，广泛应用于神经元组织追踪等。

产品参数

外观：可溶于 DMSO 的红色固体

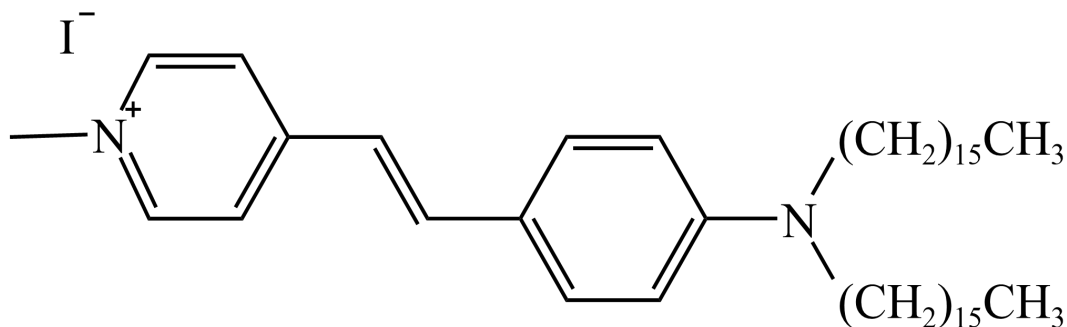
Ex/Em：456/590 nm (MeOH)

CAS 号：114041-00-8

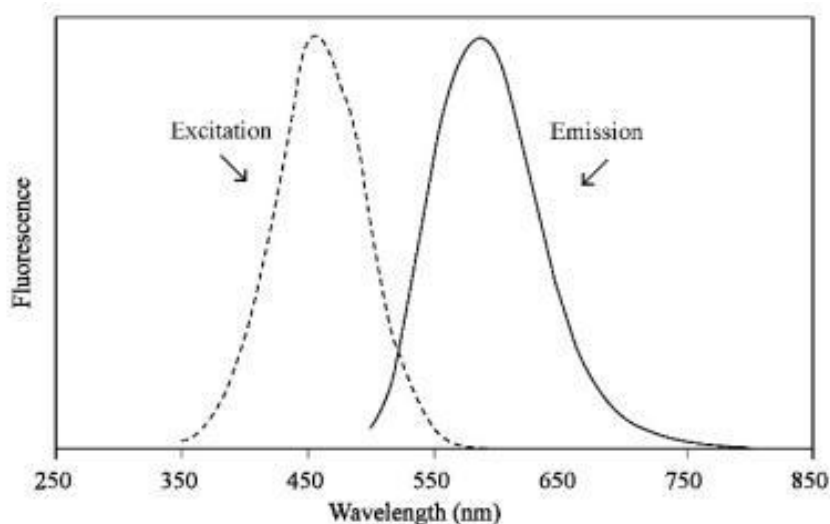
分子式：C₄₆H₇₉IN₂

分子量：787.0

分子结构图：



光谱图:



注意事项

- 1.使用前请将产品瞬时离心至管底, 再进行后续实验。
- 2.荧光染料均存在淬灭问题, 实验操作时请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。
- 3.DiA 细胞膜荧光探针 (绿色) 染色固定的细胞或组织样品时, 通常使用配制在 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。
- 4.本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品和药品, 不得存放于普通住宅内。
- 5.为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1.耗材

- (1) 离心管 (2) 盖玻片

2.试剂

- (1) 无水 DMSO 或 无水 EtOH 或 无水 DMF (2) 无血清培养基 或 HBSS 或 PBS (3) 培养基 (预温)

3.仪器

荧光显微镜 或 流式细胞仪

操作步骤

1.染色液制备

(1)配制储液:储液用无水 DMSO、无水 DMF 或 EtOH 配制,浓度 1~5 mM。DiA 在无水 DMSO 和无水 DMF 中的溶解度比在 EtOH 中的溶解度高。

注: 1) 未使用的储存液分装储存在 -20 °C, 避免反复冻融;

2) 发现较难溶解时可以适当加热, 并用超声处理以促进溶解。

(2) 工作液制备: 用合适的缓冲液 (如: 无血清培养基, HBSS 或 PBS) 稀释储液, 配制浓度为 1~30 μ M 的工作液。最常用的工作液浓度为 5~10 μ M。

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 1×10^6 /mL。

(2) 37 °C 孵育细胞 2~20 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效果。

(3) 孵育结束, 1000~1500 rpm 离心 5 min。倾倒上清液, 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，但要使表面保持湿润。
- (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 $^{\circ}$ 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效果。
- (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，可通过荧光显微镜成像或流式细胞仪分析。

注：绿光激发，荧光显微镜滤光片可以选择 FITC (绿色) 或者 Cy3 (橙红色) 或者 Cy3.5 (深红色) 滤光片；流式细胞仪选择 BL1 (FL1) 或者 BL2 (FL2)。