

DiA 细胞膜荧光探针

1 产品基本信息

产品名称（中文）：DiA 细胞膜荧光探针

产品名称（英文）：DiA Cell Membrane Probe

产品编号：MX1493

产品规格：50 mg

2 产品介绍

DiA 是一种亲脂性氨基苯乙烯基探针，在细胞膜中的扩散速度比 DiO 快，常与 DiI 一起用于细胞膜双色标记，适用于神经元膜示踪。

DiA 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 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。

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。

适用范围：

细胞膜荧光染料、神经元顺行和逆行示踪、细胞长期示踪。

3 产品参数

外观：可溶于 DMSO 的红色固体

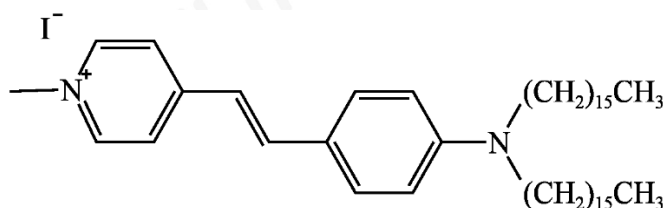
Ex/Em: 456/590 nm (MeOH)

CAS 号：114041-00-8

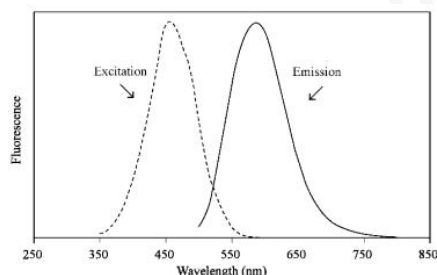
分子式：C₄₆H₇₉IN₂

分子量：787.0

分子结构图：



光谱图



4 储存与运输

储存条件：4 °C 避光保存

运输条件：冰袋运输

5 使用方法（仅供参考）

一、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

二、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℃，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℃ 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℃ 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℃ 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）。

6 常见问题

Q1：细胞膜染料溶解度多少合适？是否有推荐？

答：不同的细胞膜染料溶解度不同，请根据相应的说明书进行溶解。下面是常用细胞膜染料的溶解度供参考。

(1)DiO (货号: MX1445) 在 DMSO 中溶解度是 5 mg/mL (需要进行超声 1~1.5 h 和 60℃加热助溶); 在 DMF 中溶解度是 10 mg/mL (需要超声助溶)。

(2)DiA (货号: MX1493) 在 DMSO 中溶解度是 2 mg/mL (需要进行超声 1~1.5 h 和 60℃加热助溶)。

(3)DiD (货号: MX1457) 在 DMSO 中溶解度是 25 mg/mL (需要进行超声 1~1.5 h 和 60℃加热助溶)。

(4)DiI (货号: MX1448) 在 DMSO 中溶解度是 12.5 mg/mL (需要进行超声 1~1.5 h 和 60℃加热助溶)。

(5)DiR (货号: MX1444) 在 DMSO 中溶解度是 10 mg/mL (需要进行超声 1~1.5 h 和 60℃加热助溶)。

此外, 请注意 DMSO 受潮问题可能会影响溶解度, 请尽量使用新开封的 DMSO。

Q2 : Di 系列染料染色细胞后, 用 4%多聚甲醛固定和 0.1% TritonX-100 透化后, 染色亮度低的原因是什么?

答: Di 系列的细胞膜染料均是亲脂类染料。经 TritonX-100 进行透化处理后, 磷脂双分子层被破坏, 影响 Di 系列染料与细胞膜的结合导致染色亮度变低。Di 系列的染料较推荐活细胞的细胞膜染色。

7 注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底, 再进行后续实验。
- DiA 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。
- 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。
- 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。