产品名称：DiD（细胞膜红色荧光探针）

产品货号：RA20003

基本信息

中文名称	DiD（细胞膜红色荧光探针）
英文名称	DiD
产品规格	10mg
存储条件	-20℃，避光保存
运输条件	低温
有效期	12 个月
激发/发射波长	644/663nm

产品介绍

DiD 染料是亲脂性荧光染料家族成员之一，它可以用来染细胞膜和其它脂溶性生物结构。当 DiD 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。DiD（远红色荧光）可以用来对活细胞进行成像和流式分析。DiD 可以用 633 nm He–Ne 激光器激发，有着比 DiI（一种常见的细胞荧光染料）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。

DiD 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。

试剂制备

（1）配制储液：储液用无水 DMSO 或 EtOH 配制，浓度 1~5 mM。注：未使用的储存液分装储存在-20℃，避免反复冻融。（如：10mg 的 DiD 粉末配置成 5mM 浓度的储液，需加入 2.08mL 的 DMSO）

（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 1~5 μM 的工作液。（若 5mM 的储液，配置成 5μM 的工作液，需稀释 1000 倍）

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。

实验步骤

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。

产品名称：DiD（细胞膜红色荧光探针）

产品货号：RA20003

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 μL 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 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。

（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。

备注：该试剂仅供科研使用！