



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

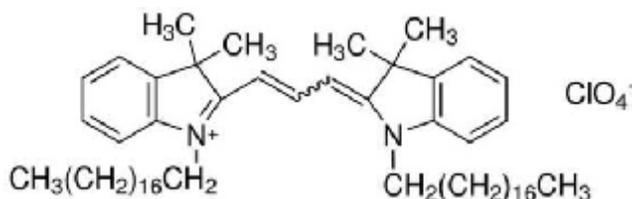
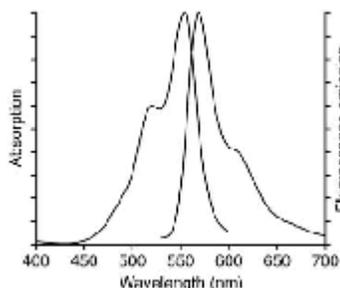
细胞膜红色荧光染色试剂盒（Dil）

货号	产品名称	规格
CD2040	细胞膜红色荧光染色试剂盒（Dil）	200-1000次

● 产品介绍:

细胞膜红色荧光染色试剂盒(Dil), Cell Plasma Membrane Staining Kit with Dil (Red Fluorescence)是一种以 Dil 为荧光探针,能够快速灵敏地对细胞膜进行红色荧光染色标记的试剂盒。

Dil 即 DilC18(3), 全称为 1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate, 分子式为 C₅₉H₉₇ClN₂O₄, 分子量为 933.88, CAS 号为 41085-99-8, 是最常用的细胞膜荧光探针之一, 呈现橙红色荧光。Dil 是一种亲脂性羰花青(carbocyanine)染料, 具有很长的亲脂性烃链, 进入细胞膜后可以侧向扩散逐渐使整个细胞的细胞膜被染色, 染色后非常稳定。



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荧光。Dil 被激发后可以发出橙红色的荧光, Dil 和磷脂双层膜结合后的激发光谱和发射光谱参考上图。其中, 最大激发波长为 549nm, 最大发射波长为 565nm。

本试剂盒如果用于流式细胞仪, 每个样品的检测体系体积为 0.5 ml 时, 可以进行 200 次检测; 96 孔板每孔检测体系的体积为 100 μ l 时可以进行 1000 次检测。

● 产品组成:

组份货号	产品名称	规格	贮存
CD2040-01	Dil (400 \times)	0.25 ml	-20 $^{\circ}$ C
CD2040-02	染色缓冲液	100 ml	4 $^{\circ}$ C
-	说明书	1 份	

● 贮存:

Dil (400×) -20℃避光保存, 一年有效。染色缓冲液可以 4℃贮存。

● 使用说明:

1. 细胞膜染色工作液制备:

	细胞膜染色工作液配制量	
	1 ml	10 ml
Dil (400×)	2.5 μl	25 μl
染色缓冲液	997.5 μl	9.975 ml

细胞膜染色工作液的用量: 对于 6、12、24、96 孔板, 每孔的细胞膜染色工作液分别为 1~2ml、0.5~1ml、300~500μl 和 50~100μl; 对于流式细胞样品, 每个样品的细胞膜染色工作液为 0.5ml; 对于切片, 可以根据切片大小, 每个切片使用 100-200μl 的细胞膜染色工作液。

注: 不同细胞的最佳染色浓度略有不同, 细胞膜染色工作液的最终浓度建议根据不同细胞系和实验体系进行优化, 可在 1:100-1:400 之间进行调整。

2. 悬浮活细胞染色:

2.1 加入适当体积的细胞膜染色工作液重悬细胞, 使其密度为 1×10^6 /ml 左右。

2.2 37℃避光孵育细胞 5-20 min, 不同的细胞最佳孵育时间不同。以 5 min 作为初始孵育时间, 根据实际所用的细胞优化染色时间, 以得到最佳的荧光染色效果。

2.3 500×g 常温离心 5 min。

2.4 吸除上清液, 缓慢加入 37℃预热的细胞培养液重悬细胞。

2.5 用细胞培养重复漂洗沉淀一次。

2.6 流式细胞仪检测, 或将细胞封片观察, 封片时请避免使用含有甘油或其它有机物的封片剂, 否则会影响染色并增加荧光背景, 可以直接用 PBS 封片, 在荧光显微镜下观察。

3. 贴壁活细胞染色:

3.1 将贴壁细胞种于细胞培养皿、多孔细胞培养板或者细胞爬片上。

3.2 吸除细胞培养液, 用 PBS 洗涤细胞 2 次。

3.3 加入适当体积的细胞膜染色工作液, 轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。

3.4 37℃避光孵育细胞 5-20 min, 不同的细胞最佳培养时间不同。以 5min 作为初始孵育时间, 根据实际所用的细胞优化染色时间, 以得到最佳的荧光染色效果。

3.5 吸除细胞膜染色工作液, 用 PBS 洗涤 2 次, 然后加入 37℃预热的细胞培养液即可在荧光显微镜下观察。

4. 固定后细胞或切片的染色:

注: Dil 不建议用于固定后细胞或组织的染色, 因为细胞固定后影响了细胞膜的结构, 不能准确反映荧光标记位置。以下步骤仅供参考:

4.1. 使用 4%多聚甲醛固定液进行固定。

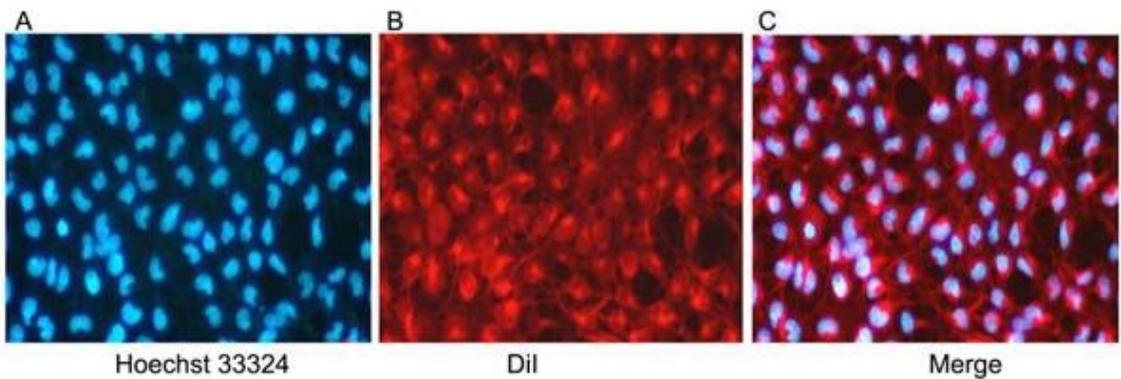
4.2 吸除固定液, 用 PBS 洗涤细胞 3 遍。

4.3 使用配制在 PBS 中的 0.1% Triton X-100 进行通透，常温 10 min。然后用 PBS 洗涤细胞 3 遍。

4.4 按照免疫染色的方法进行抗体的孵育或用其它染料进行染色。注意：抗体孵育步骤中的封闭液、抗体稀释液及洗涤液不能含有去垢剂。

4.5 加入适当体积的细胞膜染色工作液，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞或样品。

4.6 37°C 避光孵育 5-20 min，最佳染色时间需要根据自己的实验条件摸索，以达到最佳的荧光染色效果。



4.7 吸除细胞膜染色工作液，用 PBS 洗涤 2-3 次，随后即可在荧光显微镜下观察。

● 实验示例：

操作程序：293 细胞调整密度 1×10^5 /ml，接种到 6 孔板中，培养 30 小时；去除培养基，PBS 漂洗一次；33342 染色 37 度 10 分钟，去除 33342 染色液，加 1.5 ml PBS，观察拍照（40×）（图 A）；去除 PBS，Dil 染色，37 度 10 分钟，去除 Dil 染色液，加 1.5ml PBS，观察拍照（40×）（图 B）