

# 使用说明书

Instruction Manual

TargetMol  
YOUR TARGET MOLECULES

## DiD 染色液

### DiD Staining Solution

#### 产品描述

DiD (1,1'-dioctadecyl-3,3',3'-tetramethylindotricarbocyanine iodide) 是一种亲脂性荧光染料，属于吖啶花菁类染料。DiD 分子中的长链烷基具有强脂溶性，可与细胞膜脂质双分子层中的疏水尾部通过疏水作用结合，分子的极性头部则暴露于膜表面，DiD 分子能稳定地锚定在细胞膜上，从而实现了对细胞膜的荧光标记。DiD 在进入细胞膜之前荧光非常弱，当进入到细胞膜后可以被激发出很强的远红荧光。DiD 的最大激发波长为 644 nm，最大发射波长为 663 nm，通常用 633 nm 的氩-氦激光激发。DiD 的荧光波长较长，组织穿透性较好，更适合用于深层组织或活体成像中的细胞追踪。其长波长在细胞和组织染色中具有优势，适合进行多种荧光同时染色，受组织自发荧光干扰小。

#### 产品信息

DiD 染色液	
Ingredient	DiD perchlorate
CAS	127274-91-3
Conc.	5 mM
Solvent	DMSO

#### 产品特点

1. 远红荧光的组织穿透力强，适合深层组织或活体成像中的细胞追踪。
2. 细胞膜标记特异性强。
3. 细胞毒性低，可用于活细胞标记研究。
4. 适用性广，能用于多种样本类型。
5. 兼容性好，可与多重荧光探针共染。
6. 稳定性好，适合长时间标记。

#### 产品应用

活细胞标记与追踪、细胞谱系分析、活体成像中的细胞追踪、深部组织中细胞追踪、外泌体与囊泡追踪、药物载体评价。

#### 工作液配制

用适宜稀释液（无血清培养基、PBS 或 HBSS）将 DiD 储备液稀释成染色工作液（1-30  $\mu$ M）。具体的 DiD 工作液浓度应根据实验情况调整，一般用于细胞膜荧光标记的常用工作浓度为 5-10  $\mu$ M。

## 使用说明

### 1. 悬浮活细胞染色

- (1) 取对数生长期的悬浮细胞，1000 rpm 室温离心 5 min，弃上清。加 PBS 重悬，1000 rpm 室温离心 5 min，弃上清。
- (2) 用 37°C 预热的培养基重悬，调整细胞密度至  $1 \times 10^6$ - $5 \times 10^6$  cells/mL。
- (3) 按细胞悬液体积的 1/10 倍加入 DiD 工作液，轻柔混匀，在 37°C 避光孵育 5-20 min。
- (4) 1000 rpm 离心 5 min，弃上清。用 37°C 预热的细胞培养基洗涤细胞 2-3 次，再重悬细胞。
- (5) 用流式细胞仪检测，或将细胞悬液滴在载玻片上，盖上盖玻片后，置于荧光显微镜下观察。Ex=644 nm，Em=663 nm 左右。

### 2. 贴壁活细胞染色

- (1) 吸去培养液，用 37°C 预热的细胞培养基洗涤细胞 1 次。
- (2) 向细胞加入适量 DiD 染色工作液，需要使染液覆盖住所有细胞，于 37°C 避光染色 5-20 min。
- (3) 吸除 DiD 工作液，用 37°C 预热的细胞培养基洗涤 2-3 次，每次 5 min。
- (4) 加入 37°C 预热的细胞培养基覆盖住细胞，置于荧光显微镜下观察。Ex=644 nm，Em=663 nm 左右。

## 储存条件

-20°C 避光保存，一年有效。

## 注意事项

1. DiD 染色液对活细胞染色时建议在 37°C，对固定细胞或组织染色时可在常温。若需对细胞或组织固定，通常建议选用 4% 多聚甲醛作为固定液。
2. 悬浮细胞染色期间，建议每隔 10 min 轻晃离心管，防止细胞沉降聚集，影响染色均匀性。
3. 由于样本类型和实验环境的不同均会影响染色效率，建议通过预实验来优化工作液浓度和染色时间。
4. DiD 在水溶液中稳定性差，长时间放置易聚集，荧光效率也会下降，建议 DiD 工作液现用现配。
5. 对数生长期细胞活性高、膜流动性好，建议选择对数生长期细胞进行染色，避免使用衰老或密度过高的细胞（膜功能受损会影响染料结合）。
6. 本品仅适用于专业科研用途，严禁用于临床诊断、治疗、食品或药品领域，且不得存放于住宅等非专业场所。
7. DiD 为脂溶性染料，可通过皮肤接触危害健康，为保障操作安全与人员健康，操作时请务必穿戴实验服并佩戴一次性手套。

