

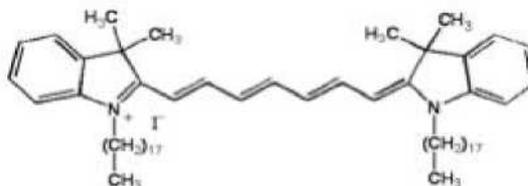
DiR 细胞膜近红外荧光探针

货号: MPD230201

分子式: $C_{63}H_{101}N_2$

分子量: 1013.4

结构式:



产品介绍:

染料 DiI, DiO, DiD 和 DiR 是一类亲脂性荧光染料家族, 用于标记细胞膜和疏水性组织。这是一类环境敏感型荧光染料, 当它们与膜结合或者与亲脂性生物分子(例如蛋白质, 虽然在水中其荧光强度很弱)结合时, 其荧光强度显著增强。它们具有很高的淬灭系数, 偏光依赖性和很短的激发寿命。一旦应用于细胞中, 这种染料会在细胞内质膜中逐步扩散, 导致在其最佳浓度条件下, 将整个细胞染色。

它们不同的荧光颜色: DiI (橙色荧光)、DiO (绿色荧光)、DiD (红色荧光)、DiR (深红色荧光), 为活细胞多色彩荧光成像分析和流式细胞术提供了一种便捷的工具。DiO 和 DiI 可以分别与标准的 FITC 和 TRITC 滤光器一同使用, 其中, DiO 可以被 633 nm He-Ne 激光激发, 并且具有比 DiI 更长的激发和发射光波长, 为标记细胞和组织的那些本身就具有本底荧光的染料提供了非常卓越的替代品。

DiR 在活体成像或者示踪中非常有用, 因为它们所发射的红外光可以高效地穿过细胞和组织, 并且在红外光范围内, 其本底荧光水平很低。

技术资料:

- 1 .Ex (nm): 748
- 2 .Em (nm): 780
- 3 .分子量: 1013.39
- 4 .溶剂: DMSO

使用方法:

1 .DiD, DiO, DiI, DiR 细胞膜染色液制备

(1) 配置 DMSO 或 EtOH 储存液: 储存液用 DMSO 或 EtOH 配置浓度 1~5mM。

注意: 未使用的储存液保存在 -20 °C, 避免反复冻融。

(2) 工作液制备: 用合适的缓冲液(如: 无血清培养基, HBSS 或 PBS) 稀释储存液, 配制浓度为 1~5pM 的工作液。

注意: 工作液的最终浓度是根据不同细胞和实验的经验来配制。可以从推荐浓度的十倍以上寻找最佳条件。

2 .悬浮细胞染色

(1) 悬浮细胞密度为 1×10^6 /mL 加入到工作液中。

(2) 在 37°C 培养细胞 2~20 分钟, 不同的细胞最佳培养时间不同。

(3) 染色细胞试管在 1000~1500 转离心 5 分钟。

(4) 倾倒上清液, 再次缓慢加入预温 37°C 的培养液。

(5) 重复(3), (4)步骤两次以上。

3 粘壁细胞的染色

(1)使粘壁的细胞在无菌实验室培养。

(2)从培养基中移走盖玻片，吸走过量培养液，将盖玻片放在潮湿的环境中。

(3)在盖玻片的一角加入 100pL 的染料工作液，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。

(4)在 37℃ 培养细胞 2~20 分钟，不同的细胞最佳培养时间不同。

(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，培养 5~10 分钟，然后吸干培养基。

4 流式细胞仪的检测

DiO、DiI、DiD、DiR 染色的细胞可以分别用经典的 FL1, FL2, FL3 和 FL4 流式细胞仪检测。

储存条件：-20℃干燥避光保存，有效期一年。

运输条件：2~8℃运输

检测条件：

(1)DiR 工作液浓度：5pM

(2)染色条件：贴壁细胞：37℃染色工作液孵育细胞 20 分钟，用培养液洗 2 次，每次用预温的培养基覆盖所有细胞，培养 10 分钟。悬浮细胞：37℃染色工作液孵育细胞 20 分钟，1000~1500 转离心 5 分钟，倾倒入上清液，再次缓慢加入预温 37℃的培养液，重复两次。

(3)检测仪器：小动物活体成像仪 (VILBER, FUSION FX) ; Ex/Em=750/850nm

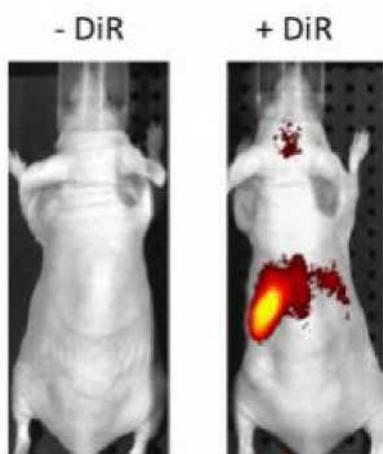


Figure 1. T- cells isolated from the spleen were fluorescently stained with DiR and i. v. injected (5×10^6 cells/ mouse) into a Nu/ Nu mouse. Images above taken 24hrs post injection with IVIS Spectrum show cells homing to the spleen.

In Vivo Imaging of DiR Stained Spleen T-cell Distribution

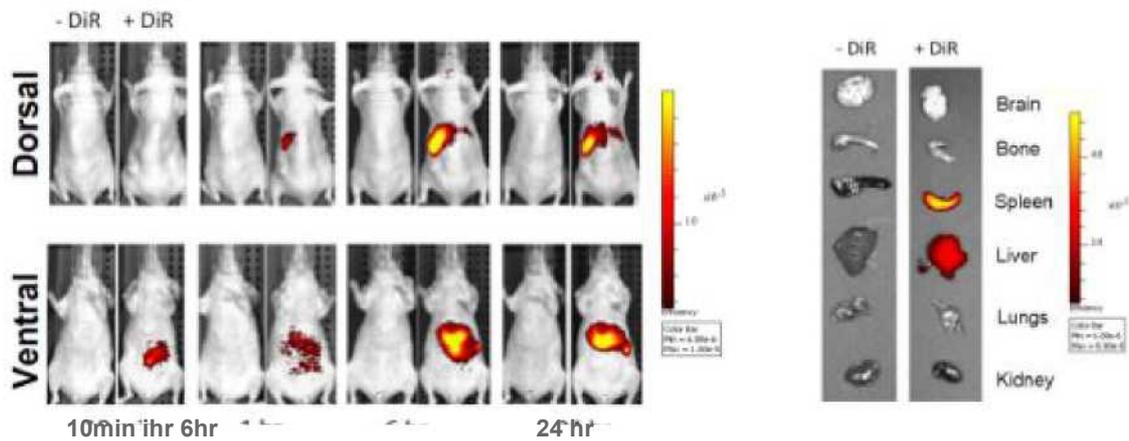


Figure 2 . DiR stock was prepared by dissolving 25 mg in 3 mL ethanol . Working solution of 320 pg/ mL was prepared by diluting 199 μ L of stock solution in 5 mL PBS. T- cells isolated from the spleen were incubated with 320 pg/ mL DiR. After 30 min incubation, cells were spun down for 3 min at 1000 rpm at 4 $^{\circ}$ C resulting in a blue pellet . Cells were washed twice in PBS and injected intravenously (5×10^6 cells/ mouse). Control group was injected with 5×10^6 cells/ mouse in PBS. Mice were imaged with IVIS Spectrum at 10 min, 1hr, 6hr and 24 hrs post injection . Ideal filter set for DiR imaging is 710 nm excitation and 760 nm emission . Mice were imaged dorsally as well as ventrally at all time points . Brain, bones, spleen, liver, lungs and kidneys were harvested for ex vivo imaging 24 hrs post injection .

Non- invasive in vivo imaging showed the homing process of injected T cells to the liver and spleen in real time, which was confirmed by ex vivo imaging .

