

## DiR

### 产品描述

DiR, 又叫DiI<sub>C18</sub>(7), 是一种常见的用于标记细胞膜的深红色荧光探针, 广泛应用于固定或非固定的细胞或组织。DiR是DiI的衍生物, 也是一种亲脂性探针, 在进入细胞前荧光很弱, 进入细胞并与细胞膜结合后荧光强度大大增强, 可以将整个细胞膜染上红色。DiR一般不会影响细胞的活性, 因此也被广泛用于示踪, 如正向或逆向的神经示踪分析。

DiR在活体成像中非常有用, 因为它所发射的近红外光可以高效的穿透组织, 而且在近红外光范围内, 本底荧光水平很低。此外, DiR还可以用于检测细胞的融合和粘附、发育或细胞迁移、细胞毒性和标记脂蛋白等。

### 组分和储存条件

Components	B8806-5 mg	B8806-10 mg
DiR	5 mg	10 mg

-20°C 干燥避光保存, 一年有效。储存液-20°C 避光保存, 6个月有效。

### 实验操作

#### 1. 储存液和工作液配制

- 1) 用无水DMSO或者无水乙醇溶解DiR配成1 mM的储存液。

**\*Note:** 未使用的储存液可以适当分装后储存在-20°C, 避免反复冻融。

- 2) 用适当缓冲液(无血清培养基、PBS或HBSS)将储存液稀释成1-30 μM的工作液, 最常用的工作液浓度为5-10 μM。工作液不稳定, 需要现配现用。

**\*Note:** 工作液浓度可以根据具体实验使用的细胞和实验体系进行调整和优化。

#### 2. 悬浮细胞标记

- 1) 收集细胞后1000 rpm离心5 min, 弃去上清, 用适量工作液重悬细胞, 使细胞密度为 $1 \times 10^6$  cells/mL。
- 2) 37°C避光孵育2-20 min。不同细胞的最佳孵育时间不同, 一般可以20 min作为起始孵育时间, 之后可以根据实验结果优化孵育时间。
- 3) 孵育后1000 rpm离心5 min。弃去上清。
- 4) 用预热的培养基洗涤细胞2次。

- 5) 用无血清细胞培养基或PBS重悬细胞后进行观察。DiR的最大激发波长为748 nm，最大发射波长为780 nm。DiR发射的近红外波长肉眼不可见，所以检测需要配备CCD镜头或者其他的近红外检测仪器。

### 3. 贴壁细胞标记

- 1) 将贴壁细胞接种于培养皿中的细胞爬片上。
- 2) 将爬片从培养皿中取出，用滤纸吸去爬片边缘多余培养基。
- 3) 往爬片上加100  $\mu$ L工作液，轻轻摇晃使工作液覆盖细胞，37°C避光孵育2-20 min。不同细胞的最佳孵育时间不同，一般可以20 min作为起始孵育时间，之后可以根据实验结果优化孵育时间。
- 4) 孵育后吸弃工作液，用预热的培养基孵育5-10 min。然后换成新的预热培养基继续孵育5-10 min，孵育后吸弃培养基。

**\*Note:** 过程中要注意保持爬片表面湿润，避免干片。

- 5) 样本可在无血清细胞培养基或PBS中进行观察。DiR的最大激发波长为748 nm，最大发射波长为780 nm。DiR发射的近红外波长肉眼不可见，所以检测需要配备CCD镜头或者其他的近红外检测仪器。

### ■ 注意事项

1. 荧光探针容易淬灭，使用时请注意避光。
2. 如果染色时间过长或者染色后继续进行培养，探针也有可能进入细胞内染色其他细胞器。
3. DiR发射的近红外波长肉眼不可见，所以检测需要配备CCD镜头或者其他的近红外检测仪器。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅限于科研使用，不得用于临床诊断或治疗。

**APEX BIO Technology**

**www.apexbt.com**

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com