

MitoBright™ DiIC₁(5) Mitochondrial Probe

最快 15 min, 快速灵敏, 红外检测线粒体膜电位

产品货号: C22312

产品规格: 250 µg

储运条件: 4 °C避光保存, 冰袋运输

产品简介:

MitoBright™ DiIC₁(5) Mitochondrial Probe是专为活细胞线粒体膜电位高灵敏、高特异性检测开发的阳离子羧花青类荧光染料型探针, 仅用于科研用途。产品核心组分为高纯度DiIC₁(5) (1,1',3,3',3',3'-六甲基吲哚二羧花青碘化物) 荧光探针, 可灵活适配各类实验体系与检测平台。本产品核心原理为: 亲脂性阳离子探针可自由穿透真核细胞质膜, 100 nM以下低工作浓度下, 可依赖线粒体跨膜电位特异性富集于活细胞中功能正常的线粒体中; 细胞凋亡进程中伴随的线粒体膜电位进行性丧失, 可直接通过远红色荧光通道的信号强度线性减弱进行表征, 通过荧光强度变化直接定量反映线粒体功能完整性, 精准捕捉细胞内源性凋亡的早期标志性事件。与JC-1、TMRM等传统检测工具相比, 本产品优势显著: 远红光光谱与PI、Annexin V等常用染料无光谱交叉干扰, 适配多参数联合检测; 单通道信号关断模式无需复杂双通道比值计算, 操作与判读更简便; 低浓度无细胞毒性, 不干扰线粒体生理功能, 非特异结合少、信噪比高, 凋亡亚群分辨能力优于同类染料; 活细胞适配性优异, 可按需搭配CCCP等线粒体解偶联剂完成特异性验证, 实验灵活性强。本产品广泛适配流式细胞术、荧光显微镜/共聚焦成像、高通量药物筛选、细胞凋亡与线粒体功能基础研究、生殖生物学精子活力检测、氧化应激与呼吸链功能评价等核心场景。

线粒体是真核细胞能量代谢的核心细胞器, 线粒体膜电位稳态是维持呼吸链功能、ATP合成与细胞氧化还原平衡的关键, 其异常崩解是细胞内源性凋亡启动的最早标志性事件, 显著早于磷脂酰丝氨酸外翻等晚期凋亡特征, 是生命科学研究的核心检测指标, 其异常与肿瘤、神经退行性疾病、心血管疾病、生殖障碍等多种疾病密切相关。本产品性能稳定, 可与多种细胞损伤、死亡标志物联用, 实现细胞死亡进程的精准分型; 可用于精子凋亡与活力评价、呼吸链功能检测、氧化应激机制研究、靶向线粒体药物的高通量筛选等。本产品为线粒体功能与细胞凋亡相关研究提供了高灵敏、高兼容性的标准化检测方案, 可有效降低实验干扰, 助力科研人员获取稳定可靠的实验数据, 为线粒体相关疾病的机制研究、靶向药物研发提供坚实支撑, 推动相关基础研究的创新突破与临床转化。

注: 效能等同于Biotium DiIC₁(5) (1,1'-dimethyl-3,3',3',3'-tetramethylindodicarbocyanine, iodide) (70015)。

应用范围: 线粒体膜电位崩解检测, 细胞凋亡/死亡的早期诊断, 线粒体活性氧(ROI)产生分析, 呼吸链复合功能研究, 活细胞线粒体荧光示踪, 多参数流式细胞术的细胞活力检测;

产品特点:

- **特异性强:** 低浓度下仅富集于活细胞正常的线粒体, 膜电位消失时荧光信号快速下降, 特异反映凋亡进程加剧;
- **适合多色搭配:** 适配流式细胞术多参数检测, 亚群分辨率优于常规染料;
- **高效灵活:** 染色孵育 10~30 min 即可完成, 适配活细胞流式检测与荧光显微镜观测;
- **响应灵敏:** 对线粒体膜电位变化即时响应, 可作为细胞凋亡早期检测的快速指标
- **应用场景多样性:** 覆盖基础研究(细胞膜动态观测、脂质扩散检测)与功能研究(细胞迁移追踪、细胞毒性评估、脂蛋白靶向标记)。

产品参数:

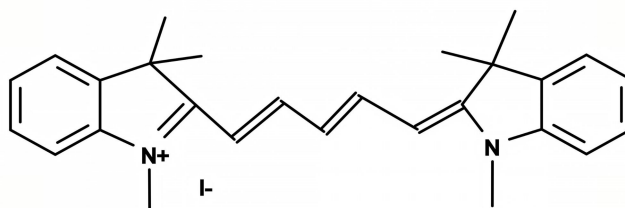
- **外观:** 暗绿色固体;
- **Ex/Em:** 638 nm/658 nm;
- **CAS 号:** 36536-22-8;
- **分子式:** C₂₇H₃₁IN₂;
- **分子量:** 510.46;



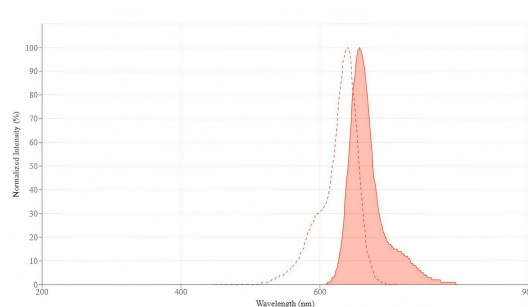
仅限体外科研用途 不得用于临床诊断或治疗
技术咨询 Contact@probelives.com
订购咨询 Sales@probelives.com

中文网址 www.probelives.cn
英文网址 www.probelives.com
Suzhou Probilives Technology CO., LTD.

● 分子结构图：



● 光谱图：



产品组分：

组分	10000 T
MitoBright™ DiIC ₁ (5) Mitochondrial Probe	250 μg

注：以每次使用 1000 μL 染色工作液，染色工作液浓度 50 nM 计算。

注意事项：

- DiIC₁(5) 难溶解时，优先使用无水 DMSO 作为溶剂，并通过 37 °C 温和加热或短时间超声处理辅助溶解，避免高温长时间加热。
- 探针经多聚甲醛固定后保留性差，不建议染色后进行固定处理，如需固定需优化实验条件。
- 染料工作液易吸附于管壁，制备后请立即使用，避免长时间放置导致染色效果下降。
- 使用前请将产品瞬时离心，再进行后续操作。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明：

一、实验前准备

1. 试剂准备：

- 将试剂从储存条件（如 4 °C）取出，平衡至室温（15~25 °C），严禁冷冻。
- 准备细胞培养基、无水 DMSO 和 PBS 缓冲液。
- 染料储液：将恢复至室温的 DiIC₁(5) 固体粉末瞬时离心后，用无水 DMSO 制备 1~5 mM 的储液。举例：250 μg 规格的 DiIC₁(5) 固体粉末恢复室温，瞬时离心后，加入 1 mL 无水 DMSO，制备 500 μM 储液（可根据实验需求稀释至 1~5 mM）。
- 染色工作液储液制备：流式检测/活细胞成像时用 37 °C 预热的无血清培养基或 PBS 将储液稀释至 5 μM，临用前制备，立即使用。

注：未使用的储液分装后 -20 °C 避光保存，避免反复冻融。

注：储液难溶解时，可 37 °C 加热 5 min 或短时间超声 (1~2 min) 辅助溶解。

2. 仪器准备：



- 流式细胞仪：配备633 nm激发光源的流式细胞仪
- 荧光显微镜：配备633 nm激发光源的荧光显微镜

二、操作步骤

方案一：悬浮细胞标记

1. 细胞准备

- (1) 用常规生长培养基将细胞浓度调整为 1×10^6 个/mL。

2. 细胞染色：

- (1) 每 1 mL 细胞悬浮液加入 10 μ L DiIC₁(5) 5 μ M 的储液至终浓度为 50 nM。通过低速涡旋或者轻弹管壁使其充分混合。37 °C 孵育 15 min，孵育时长可根据不同的样本类型进行灵活调整，调整区间为 10~30 min。

注：工作液浓度及染色孵育时间均可能因为不同的细胞种类要求不同，建议染色终浓度在建议浓度 5 nM~500 nM 范围内摸索，孵育时间以 10~30 min 作为起始时间进行摸索。

- (2) 1000 rpm 离心 5 min。倾倒入清液，缓慢加入 37 °C 预热的生长培养液轻柔重悬细胞。
- (3) 重复步骤 (2) 1 次。
- (4) 用 1 mL 37 °C 预热的生长培养液轻柔重悬细胞。

3. 检测：

- (1) 在荧光显微镜下检测，可以在培养基中对细胞进行成像，使用633 nm的光源进行激发。

方案二：贴壁细胞标记

1. 细胞准备

- (1) 接种培养：将细胞接种于 96 孔板等多孔板、细胞培养皿中或者细胞爬片上；

注：贴壁细胞荧光显微镜检测接种量为 24~48 h 后预期汇合度达到 80%~95%。

注：不同细胞类型需结合实际实验条件和细胞特性灵活调整。

2. 染色工作液制备：用 37 °C 预热的无血清培养基或 PBS 将染色工作液储液稀释至 50 nM，临用前制备，立即使用。

3. 细胞染色：

- (1) 向各孔中加入对应体积的染色工作液（例如：96 孔板加 100 μ L/孔，48 孔板加 150 μ L/孔，24 孔板加 250 μ L/孔，12 孔板加 500 μ L/孔，6 孔板加 1 mL/孔）。37 °C 孵育 15 min，孵育时长可根据不同的样本类型进行灵活调整，调整区间为 10~30 min。

注：工作液浓度及染色孵育时间均可能因为不同的细胞种类要求不同，建议染色终浓度在建议浓度 5 nM~500 nM 范围内摸索，孵育时间以 10~30 min 作为起始时间进行摸索。

- (2) 去除染色工作液，加入预热的生长培养基，37 °C 孵育 5 min 清洗细胞，去除生长培养基，再重复清洗步骤 2 次。

4. 检测：

- (1) 保留适量培养基（覆盖细胞即可），置于活细胞荧光显微镜下，633 nm 激发，检测线粒体远红色荧光信号

方案三：流式细胞仪检测

适用于单纯线粒体膜电位检测，可搭配 CCCP 处理组作为阴性对照。

1. 收集与制备单细胞悬液：

- (1) 悬浮细胞：同“方案一”的步骤1和2，最终取 $5 \times 10^5 \sim 10^6$ 个细胞。

- (2) 贴壁细胞：

a. 将细胞培养基吸出至适合的离心管内备用。贴壁细胞用少量 PBS 清洗一遍，清洗后的 PBS 吸出后同样转移到盛装培养基的离心管内，1000 rpm，室温离心 5 min。

b. 加入适量不含 EDTA 的胰酶消化液（覆盖细胞即可），室温下置于显微镜下观察，待细胞变圆、间隙增大时，用移液器轻轻吹打，使细胞完全脱落。

注：胰酶消化步骤对于贴壁细胞很关键。消化时间过长，细胞需要用力吹打才能脱落容易造成机械损伤。

c. 关键：加入“a 步骤”离心管内备用的细胞培养基，终止消化。

注：离心管内备用的细胞培养基非常重要，不能直接丢弃，其中可能会含有目的细胞，且细胞培养基中的血清能够有效终止胰酶的消化作用，否则残留胰酶将会严重影响后续的检测。

d. 将细胞悬液转移至合适的离心管，1000 rpm，室温离心 5 min，吸弃上清。

e. 收集 a 步骤与 d 步骤中的细胞；

f. 用无血清培养基重悬细胞并进行细胞计数；

g. 取 $5 \times 10^5 \sim 10^6$ 个细胞，用无血清培养基补充体积到 1 mL，轻轻吹打混匀成单细胞悬液。



(3) 取 1 mL 细胞悬液至流式管中，阴性对照组加入 1 μ L 50 mM CCCP (终浓度 50 μ M)，37 °C 孵育 5 min (CCCP 也可与探针同时加入)。

2. 细胞染色：

(1) 每 1 mL 单细胞悬液加入 10 μ L 染色工作液储液 (终浓度 50 nM)，轻轻吹打混匀。

(2) 室温避光孵育 15 min，孵育时长可根据不同的样本类型进行灵活调整，调整区间为 10~30 min。

3. 洗涤与重悬：

(1) 孵育结束后，1000 rpm，室温离心 5 min，收集细胞。

(2) 吸弃上清液，加入 1 mL PBS 缓冲液轻柔重悬，进行洗涤。

(3) 再次离心，彻底吸弃上清液。

(4) 加入 1 mL PBS 缓冲液轻柔重悬细胞，制成流式上机样品。

4. 上机检测：

(1) 立即上流式细胞仪检测，633 nm 激发，采集远红色荧光信号。

(2) 用流式细胞仪在预设的检测通道下进行分析。

(3) 以 CCCP 处理组为阴性对照，进行标准补偿，圈定细胞群，排除碎片干扰。

(4) 最后检测实验样品，记录并分析细胞的平均荧光强度。

三、结果判读

● 定性分析（显微镜）：

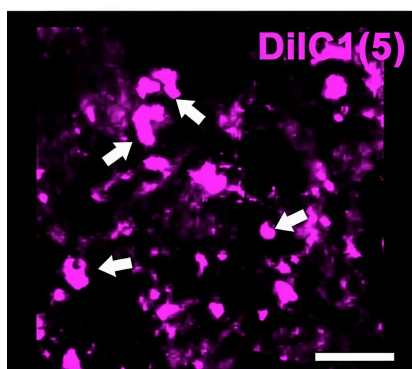


图 1. DiIC₁(5) 染料用于少突胶质前体细胞染色的荧光显微成像

● 正常染色：少突胶质前体细胞在被小胶质细胞吞噬前是正常的活细胞。

注：图片引自参考文献《Fractalkine-Dependent Microglial Pruning of Viable Oligodendrocyte Progenitor Cells Regulates Myelination》(DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108047) 使用 100 nM DiIC₁(5) 对出生后 7 天 (P7) 小鼠胼胝体急性离体脑片进行室温、避光染色 20 min，使用激光共聚焦显微镜进行荧光信号检测。

常见疑问与解答：

● 问：溶解 DiIC₁(5) 染料时发现难溶解，有什么助溶方法？

答：优先选择无水 DMSO 作为溶剂，避免使用乙醇、PBS 等水性缓冲液；难溶解时可将染料管置于 37 °C 水浴加热 5 min，或短时间超声 (1~2 min) 辅助溶解，切勿高温长时间加热导致染料降解。

● 问：为什么 DiIC₁(5) 染色后荧光信号背景高？

答：可能原因及解决方法：

a. 染料浓度过高 (>100 nM)，探针非特异性分布，建议在 1~50 nM 范围内降低浓度；

b. 孵育时间过长，探针扩散至细胞质，建议缩短孵育时间至 15 min 以内；

c. 工作液放置时间过长，染料吸附管壁，建议临用前制备并立即使用。

● 问：CCCP 处理后，DiIC₁(5) 荧光信号未下降，原因是什么？

答：可能的原因有以下几点：

a. CCCP 浓度不足，需根据细胞类型滴定 CCCP 浓度 (50~100 μ M)；

b. CCCP 孵育时间过短，建议延长至 10 min；

c. 细胞状态不佳，线粒体已无活性膜电位，需更换对数生长期细胞。

