CM-DiI Cell Membrane Probe

膜染利器，多色兼容 GFP，72 h 稳定追踪，低毒固定透化不丢信号，细胞实验精准无忧

产品货号：C22304

产品规格：20 μg，1 mg

储运条件：-20 ℃避光保存，冰袋运输

产品简介：

CM-DiI Cell Membrane Probe染料是一款**亲脂性细胞膜荧光染料**，分子结构中含温和的巯基反应氯甲基取代基，可通过与细胞内巯基肽、蛋白质共价结合，实现与含醛基固定剂的交联，确保固定后染色信号不丢失。相较于传统DiI，CM-DiI Cell Membrane Probe染料具备显著优势：**水中溶解度更高，便于染色溶液制备；部分细胞经其染色后，能在后续固定、透化及石蜡包埋处理中维持稳定标记，特别适用于细胞膜标记与免疫组化、荧光原位杂交(FISH)等后续实验的联合开展。**同时，CM-DiI Cell Membrane Probe染料激发和发射光谱与绿色荧光蛋白(GFP)充分分离，支持与其他荧光标记物联用实现颜色复用，为多重标记实验提供灵活条件。CM-DiI Cell Membrane Probe染料可自由穿过细胞膜进入细胞，转化为细胞膜不可渗透的反应产物，可在活细胞中保留多代。该染料可转移到子细胞中，但不会转移到群体中的相邻细胞中。染料表现出理想的追踪特性，至少发出 72 h的持续荧光。CM-DiI Cell Membrane Probe染料性质稳定，工作浓度下细胞毒性极低，细胞保留性良好，且染料在细胞正常生理pH范围内，就能表现出最佳荧光强度，不需要额外调整pH或使用特殊缓冲液。

CM-DiI Cell Membrane Probe染料作为常用亲脂性羧菁染料，广泛应用于生物及神经科学研究，可标记追踪细胞膜以研究活组织、固定组织中的细胞迁移、细胞跟踪及轴突投射；在神经科学领域，通过标记大脑或脊髓特定区域，能观察轴突向其他区域的投射，助力神经连接与通路研究在肿瘤研究中，既能标记肿瘤细胞观察其体外侵袭特性，也可追踪体内移植细胞的分布与增殖情况。此外，CM-DiI Cell Membrane Probe染料强烈的红色荧光易于检测，且荧光耐光漂白，支持延长成像时间而不显著丢失信号，适用于细胞培养及生物体水平研究，帮助科研人员高特异性可视化、分析标记结构。

注：效能等同于AAT CytoTrace™ CM-DiI(22057)、Thermo Fisher CellTracker™ CM-DiI染料(C7000)。

注：本文中CytoTrace™ 是AAT Bioquest的商标及注册商标；本文中CellTracker™ 是Thermo Fisher的商标及注册商标。

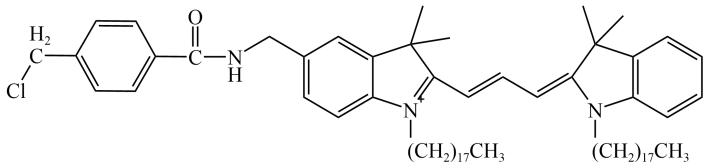
应用范围：细胞膜染色、细胞增殖与分化追踪、细胞迁移与融合观察、肿瘤细胞转移监测、肿瘤相关细胞相互作用研究、器官发生机制探索、神经元标记与神经网络示踪

产品特点：

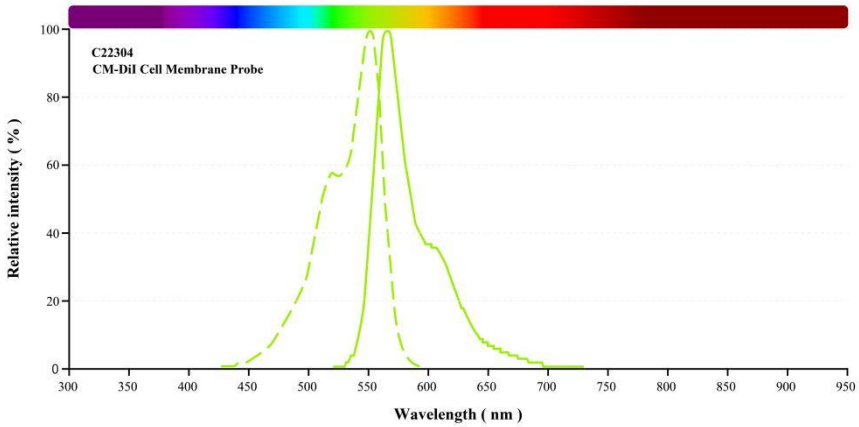
- **超长荧光稳定性：**72 h 以上持续追踪，体内实验达 8 周可长时间追踪；
- **脂溶兼水溶：**水中溶解度优于传统 DiI，溶液制备更轻松；
- **固定兼容：**共价交联醛基固定剂，固定、透化、石蜡包埋后信号依旧；
- **多色友好：**激发/发射光谱与 GFP 分离，活/固定细胞均可多标联用；
- **低毒高亮：**生理 pH 下即呈最佳荧光，工作浓度毒性极低，细胞存活＞95%。

产品参数：

- **Ex/Em：**548/563 nm；
- **CAS 号：**180854-97-1；
- **分子式：**$C_{68}H_{105}Cl_2N_3O$；
- **分子量：**1051.51；
- **分子结构图：**



- **光谱图：**



产品组分：

组分	45 T	2300 T
A. CM-DiI Cell Membrane Probe	20 μg	1 mg

注：以每次使用 100 μL 染色工作液，染色工作液浓度 4 μM 计算。

注意事项：

- 储液建议分装放置在-20 ℃，避免反复冻融。
- 荧光染料存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓淬灭，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-20 ℃)取出，平衡至室温(15~25 ℃)。
- 准备细胞培养基、无水DMSO或无水DMF。

2. 仪器准备：

- 荧光显微镜：配备548 nm激发光源或Cy3通道的荧光显微镜。

二、 操作步骤

方案一：悬浮细胞标记

1. 制备储液：

（1）将产品恢复至室温，瞬时离心至管壁，添加 DMSO 或 DMF 制备浓度为 1 mM 的储液，震荡混匀。如：20 μg 规格 CM-DiI Cell Membrane Probe 染料用 19.02 μL 溶剂溶解，1 mg 规格 CM-DiI Cell Membrane Probe 染料用 951.02 μL 溶剂溶解，则制备储液浓度为 1 mM。

2. 制备染色工作液：

（1）用无血清培养基、HBSS 或 DPBS 将 1 mM 储液稀释至 1~10 μM 的工作液。

注：不同细胞类型对于 CM-DiI Cell Membrane Probe 染料染色工作浓度可能不同，建议首次使用浓度为 2 μM，根据预实验结果调整最优浓度。

3. 细胞准备与染色：

（1）96 孔板接种约 2×10^3~1×10^4 个细胞。

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）收集待测悬浮细胞悬液至离心管中。

注：如有孔板离心机可直接适用孔板离心机。

（3）1000 rpm，室温离心 5 min，小心吸弃上清液。

（4）每孔加入 100 μL 的染色工作液，轻轻重悬细胞沉淀。37 ℃避光孵育细胞 5~20 min（延长 37 ℃孵育时间，促进染料深度插入膜双层）。

注：CM-DiI Cell Membrane Probe 染色可以按照短时间高浓度进行染色如：10 μM 染色 5 min；或采用低浓度长时间染色如 2 μM 染色 20 min。

注：染料的孵育时长、加样量可以根据实验所用的不同细胞种类、预实验结果或实验条件设置的使用量进行调整。

（5）转移至 4 ℃避光孵育 15 min（延长低温时间，减少外排）。

（6）孵育结束后，1000 rpm，室温离心 5 min，收集细胞，用 1× PBS 清洗一次后，加入 100 μL 1× PBS 保持细胞状态。

注：如果后续进行示踪试验，则使用新鲜培养基重悬细胞，保持细胞状态或继续培养细胞；如果后续使用其它染料继续染色，在最后一次染色结束，用 1× PBS 清洗一次后，使用新鲜培养基重悬细胞，保持细胞状态或继续培养细胞。

4. 检测：

（1）96孔板法：将100 μL细胞悬液加入96孔板中，静置片刻，待细胞自然沉降贴底后，置于荧光显微镜下观察。

（2）载玻片法：取20~30 μL细胞悬液滴加于洁净载玻片上，轻轻盖上盖玻片，避免产生气泡，置于荧光显微镜下观察。

方案二：贴壁细胞标记

1. 制备储液

（1）将产品恢复至室温，瞬时离心至管壁，添加 DMSO 或 DMF 制备浓度为 1 mM 的储液，震荡混匀。如：20 μg 规格 CM-DiI Cell Membrane Probe 染料用 19.02 μL 溶剂溶解，1 mg 规格 CM-DiI Cell Membrane Probe 染料用 951.02 μL 溶剂溶解，则制备储液浓度为 1 mM。

2. 制备染色工作液

（1）用无血清培养基、HBSS 或 DPBS 将 1 mM 储液稀释至 1~4 μM 的工作液。

注：不同细胞类型对于 CM-DiI Cell Membrane Probe 染料染色工作浓度可能不同，建议首次使用浓度为 2 μM，根据预实验结果调整最优浓度。

3. 细胞准备与染色：

（1）提前一天在孔板中接种细胞，使得细胞汇合度达到70%~85%，待细胞贴壁后按照实验设计处理细胞。

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）取出 96 孔板，吸出培养基，1× PBS 清洗两次。每孔加入 100 μL 的染色工作液，轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。37 ℃避光孵育细胞 10 min（延长 37 ℃孵育时间，促进染料深度插入膜双层)。

注：CM-DiI Cell Membrane Probe 染色可以按照短时间高浓度进行染色如：10 μM 染色 5 min；或采用低浓度长时间染色如 2 μM 染色 20 min。

注：染料的孵育时长、加样量可以根据实验所用的不同细胞种类、预实验结果或实验条件设置的使用量进行调整。

（3）转移至 4 ℃避光孵育 15 min（延长低温时间，减少外排）。

（4）孵育完成后，1× PBS 清洗一次。

注：如果后续进行示踪试验，则直接加入新鲜培养基，保持细胞状态或继续培养细胞；如果后续使用其它染料继续染色，在最后一次染色结束，用 1× PBS 清洗一次后，使用加入新鲜培养基，保持细胞状态或继续培养细胞。

4. 显微镜观察与拍照：

（1）加入100 μL 1×PBS保持细胞状态。

（2）直接将培养板置于荧光显微镜下观察和拍照。

三、 结果判读

1. 定性分析（荧光显微镜）观察细胞内荧光信号的分布与强度：

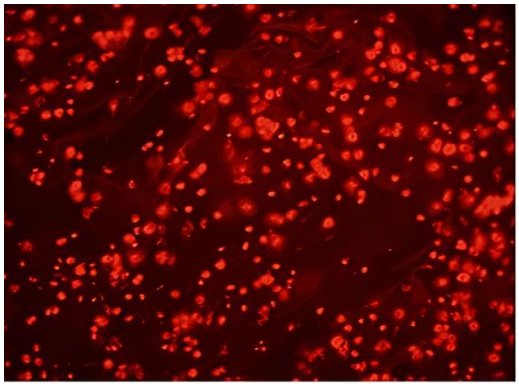


图 1. CM-Dil 染色效果图

- 正常染色：细胞膜显示红色荧光，细胞轮廓清晰，细胞膜完整、均匀，胞内无信号；
- 细胞追踪：短期追踪（1~3天）时信号无明显淬灭；长期追踪（>3天）时，细胞分裂后，子代细胞会继承部分染料，表现为“膜染色强度降低但仍均匀”。

注：图片引自参考文献《Distribution of the CM-Dil-Labeled Human Umbilical Cord Vein Mesenchymal Stem Cells Migrated to the Cyclophosphamide-Injured Ovaries in C57BL/6 Mice》(doi: 10.29252/.23.3.200)

常见疑问与解答：

- 问：我想用DAPI或者Hoechst等细胞核染料做细胞追踪实验，建议这样做吗？
  答：不建议，当这些核染料结合 DNA 或 RNA 后会影响核酸的正常功能，破坏转录和复制，而 CM-DiI Cell Membrane Probe 染料染料则可以正常追踪细胞而不破坏他们的功能。
- 问：我想做一个大约4 h的细胞迁移研究，需要使用染料对细胞进行荧光标记。有什么建议吗？
  答：CM-DiI Cell Membrane Probe 染料因带有温和的巯基反应氯甲基取代基，该取代基通过与含巯基的肽和蛋白质共价结合，从而提供更好的保留时间，但因为不同细胞，染料保存时间可能不一，故具体可以在细胞中存在多久，需要客户通过实验确定。

注：文件版本：2026 年 10 月 5 日第 9 次修订