

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01171

产品介绍

MitoBright CMXRos 线粒体荧光探针（红色）是一种氧化型红色荧光染料，含有氯甲基官能团，可以与有活性的线粒体发生特异性弱巯基反应可共价结合到线粒体上，以标记线粒体。MitoBright CMXRos 线粒体荧光探针（红色）只需与活细胞简单孵育即可被动运输穿过细胞膜并直接聚集在活性线粒体上，该染料的积累大部分取决于膜电位的高低。一旦线粒体被染色后，还可根据后续实验的需求用醛类固定剂进行固定。对于免疫组化及原位杂交实验，细胞需先经过透化，MitoBright CMXRos 线粒体荧光探针（红色）还可染色透化细胞的线粒体，但荧光亮度会有所降低。该染料适合双标记实验，其红色荧光与其他的绿色荧光探针可以很好地区分开来。

虽然传统的线粒体荧光探针如 TMR 和罗丹明 123，也可以很容易地聚集在功能线粒体上，但是一旦线粒体膜电位丧失即会被洗掉，从而在一些需要细胞进行醛类固定或者包含线粒体能量状态影响因子的实验中，使其应用大受限制。激发发射光谱图请见产品参数。

以贴壁细胞（盖玻片）举例，每个样本 100 μ L 染色工作液（500 nM），50 μ g 配置的工作液大概可以用于 1880 个样本。

应用范围

线粒体探针、凋亡细胞线粒体膜电位检测

储运条件

-20 $^{\circ}$ C 避光密封保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

稳定性好：荧光亮度强且不受膜电位变化的影响；

信噪比高：特异性结合细胞线粒体，荧光亮度强且背景低；

批间差小：产品为公司自研，批间差控制的好；

使用方便：可搭配我司其它试剂使用，方便灵活。

产品参数

外观：可溶于 DMSO 的紫色固体

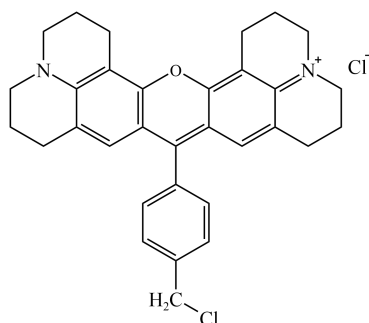
Ex/Em：579/599 nm

分子式：C₃₂H₃₂Cl₂N₂O

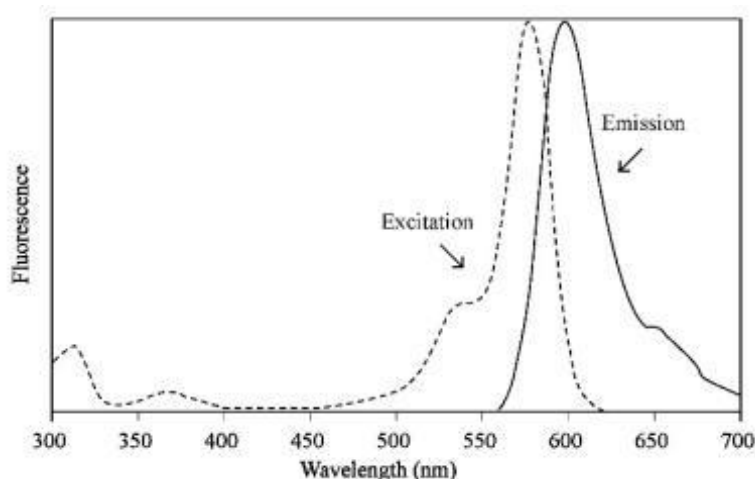
分子量：531.5

CAS 号：167095-09-2

分子结构图：



光谱图:



注意事项

- 1.使用前请将产品瞬时离心至管底, 再进行后续实验。
- 2.荧光染料均存在淬灭问题, 实验操作时请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。
- 3.对于不同的细胞和组织, 应选择合适的孵育时间和染色液浓度。
- 4.本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品和药品, 不得存放于普通住宅内。
- 5.为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1.耗材

离心管

2.试剂

(1) 无水 DMSO 或 DMF (2) 基础培养基 或 无血清培养基 (3) 1 × PBS

3.仪器

荧光显微镜 或 流式细胞仪

操作步骤

1.储液制备

(1) 在打开试剂管前, 需将本品回温至室温。

(2) 用高纯度的无水 DMSO 溶解, 配置成浓度为 1 mM 的储液。该染料分子量为 531.5 g/mol, 计算下来, 50 μg 粉末只需加入 94 μL DMSO 即可得到 1 mM 储存液。可根据单次的使用量将储存液分装成小管, 放到 -20 °C 避光保存, 避免反复冻融。

2.工作液的配制

根据不同的细胞及实验要求, 使用的染料浓度有所不同, 以下的操作条件仅作参考, 可根据细胞类型和其他的相关因素如细胞或组织的透化等进行适当调整。

用适当的缓冲液 (如 PBS) 或者细胞培养基稀释 1 mM 储液至工作液浓度。一般推荐使用浓度为 25~500 nM。对于后续需要做固定或透化的样本, 推荐工作浓度为 100~500 nM, 为了降低过度加载导致的潜在伪影和线粒体毒性, 在不影响实验结果的前提下应尽可能降低染色液浓度。另外, 浓度过高也可能对其他细胞结构进行染色。

注: 由于培养基中的氧化酶会减弱染料的作用, 本操作中不建议使用完全培养基对储液进行稀释。

3.细胞染色及检测

(1) 贴壁细胞染色

1) 培养皿/板内加入适量的培养基, 以覆盖细胞, 进行细胞玻片培养。当细胞达到足够数量, 吸除培养液。

2) 加入 37 °C 预热的染色工作液, 细胞培养箱中孵育 15~45 min (根据实验调整孵育时间)。

3) 染色结束后, 吸除染色液, 加入 37 °C 预热的新鲜培养液或缓冲液, 在荧光显微镜下观察或荧光酶标仪下读数。或进行后续的固定和透化步骤。

注: 荧光显微镜的滤光片选择 TRITC 滤光片。

(2) 悬浮细胞染色

1) 离心收集细胞, 去上清。

2) 加入 37 °C 预热的染色工作液, 轻轻吹打, 重悬细胞。细胞培养箱中孵育 15~45 min (根据实验调整孵育时间)。

3) 染色结束后, 离心收集细胞, 加入 37 °C 预热的新鲜培养液或缓冲液重悬细胞, 用流式细胞仪、酶标仪或荧光显微镜进行观察分析。如果需要盖玻片上固定化的细胞, 那么可在铺片前先用多聚赖氨酸 (poly-D-lysine) 包被载玻片或盖玻片。染色后需要固定透化的可以进行后续的固定透化步骤。

注: 荧光显微镜的滤光片选择 TRITC 滤光片。流式细胞仪选择 YL1 通道。

4.细胞固定 (可选)

1) 染色结束后, 用培养液或缓冲液清洗细胞两次。

2) 用新鲜配制且预热的含 2~4% 甲醛的缓冲液或培养液进行细胞固定。经验证, 本染料由含 3.7%甲醛的完全培养液于 37 °C 孵育内皮细胞 15 min 能起到良好的固定效果。

3) 吸除固定液, 用适当缓冲液清洗细胞 2 次。

5.细胞透化 (可选)

(1) 对于需要细胞透化的实验, 可将已固定的细胞直接加入含有去污剂如 Triton X-100 的缓冲液中孵育。透化结束后, 用缓冲液清洗细胞 2 次, 即可进行后续实验。经检测, 利用含 0.2% Triton X-100 的 PBS 孵育内皮细胞 10 min 可以达到良好的透化效果。

(2) 另外, 还可利用预冷的丙酮透化 5 min, 之后用 PBS 清洗细胞。经验证, 即使后继没有进一步的抗体标记, 丙酮透化处理也可降低背景信号。