上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

线粒体红色荧光探针
MitoTracker Red CMXRos

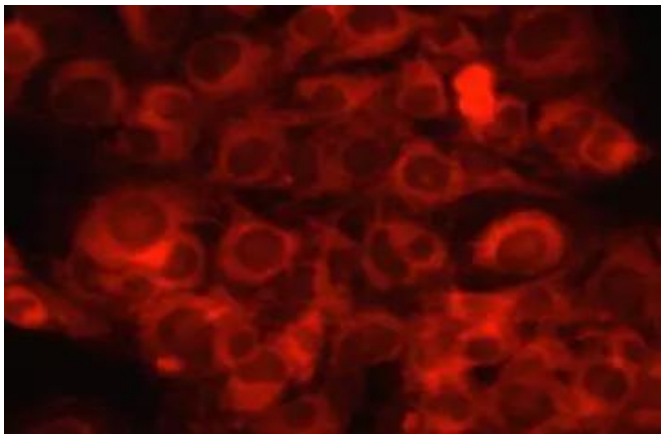
产品简介：

MitoTracker Red CMXRos 是一种红色荧光染料，用于活细胞线粒体的染色。MitoTracker Red CMXRos 是一种细胞渗透型的 X-rosamine 衍生物，包含标记线粒体的弱巯基反应性的氯甲基官能团 。本品是一种氧化型的红色荧光染料，只需简单孵育细胞，即可被动运输穿过细胞膜并直接聚集在活性线粒体上，该染料的积累取决于膜电位的高低。一旦线粒体被染色后，还能根据后续实验的 需求进行固定（醛类固定剂如甲醛）和透化（醛类去污剂如 Triton X-100），探针依然维持在细胞内。因为 MitoTracker Red CMXRos 的红色荧光与其他的绿色荧光探针具有良好的分辨率，因此本品适合双标实验。

虽然传统的线粒体荧光探针如 TMR 和罗丹明123，也能很容易的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。

产品应用标准实测：

本品配成 1mM 储存液后为紫色液体，溶液澄清度且颜色检测无可见异物；然后进行荧光染色检测：工作条件：荧光显微镜，C6 细胞，400×，工作浓度 500nM，孵育45min，**激发波长**579nm，**发射波长**599nm。



经染色，在40倍物镜下可看到细胞内线粒体被染上清晰的红色荧光

操作说明（仅供参考）：

1、储存液的配制

本品是以粉末形式提供，使用前需将本品回温至室温。 之后使用细胞培养级别的无水 DMSO 将其充分溶解至终浓度1 mM，即向50 μg 粉末中加入94 μL DMSO 即可。

【注】可根据单次的使用量将储存液分装后放到-20℃避光，避免反复冻融。

2、工作液的配制

【注】根据不同的实验目的使用不同的探针浓度，以下的起始操作条件仅作参考，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。

用适当的缓冲液或者细胞培养基稀释1 mM 储存液至工作液浓度。一般推荐使用浓度为25-500nM。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低浓度染色。另外，浓度过高也可能对其他细胞结构进行染色。

3、染色及检测

（1）贴壁细胞的染色

培养皿/板内加入适量的培养基覆盖盖玻片进行爬片培养。当细胞长至所需丰度，吸除培养液，加入37℃预热的 MitoTracker Red CMXRos 染色工作液。在所使用细胞正常培养条件下孵育15-45 min（最佳孵育时间需优化）。染色结束后，使用新鲜培养液或缓冲液替换上述染色液，即可将其置于荧光显微镜下观察或荧光酶标仪下读数。或者进行后续的固定和透化步骤，见步骤4。

（2）悬浮细胞的染色

离心收集细胞，吸除上清，利用37℃预热的 MitoTracker Red CMXRos 染色工作液轻轻重悬细胞。在所使用细胞正常培养条件下孵育15-45 min（最佳孵育时间需优化）。染色结束后，离心收集细胞，利用37℃预热的新鲜培养液或缓冲液重悬细胞，被染色的细胞可用流式细胞仪、荧光酶标仪、荧光显微镜进行

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。 或者进行后续的固定和透化步骤，见步骤4。

4、固定和透化

（1）染色结束后，利用培养液或缓冲液清洗细胞。

（2）小心吸走清洗液。换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 MitoTracker® Red CMXRos 由含3.7%甲醛的完全培养液于37℃孵育内皮细胞15min 能起到良好的固定效果。

（3）清洗细胞：吸除固定液，用适当缓冲液冲洗细胞数次。

（4）细胞透化（可选）：像 ICC 等实验需要细胞要做透化，则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，用缓冲液清洗细胞即可进行后续 ICC 实验。经检测，利用含0.2% Triton X-100的 PBS 孵育内皮细胞10min 可以达到良好的透化效果。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。

注意事项：

1.荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。

2.为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。

3.我司产品为非无菌包装，若用于细胞培养，请提前做预处理，除去热原细菌，否则会导致染菌。

保存条件：-20℃，避光防潮密闭干燥。

运输条件：2~8℃运输。