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

MitoTracker Deep Red FM（线粒体深红色荧光探针）

重要提醒(购买或初次使用前)请务必查阅:

一.荧光染料(粉末形式，特别是对氧敏感探针)配制储存液的注意事项

1)荧光探针在固体(粉末)状态很稳定，按照说明书要求温度来保存,效期内使用即可。

2)荧光探针用有机溶剂比如: DMSO,溶解配制成储存液之后，一般来说，放到-20°C保存(2-3个月内使用，甚至更短，具体可咨询) ;放到-80°C保存(6个月内使用，具体可咨询)。前提是,使用的有机溶剂必须是高质量且无水的，特别是DMSO,必须是新鲜开封。

3)配制的储存液请务必用密封性好且螺旋盖的低容量冻存管保存(不可用EP管)，至少按照5-10ul/管来分装，避光冻存。

4)对于某些特殊化合物(对空气敏感或存在不稳定结构)，可能保存周期特别短，甚至只能当天使用。这些化合物说明书上会有说明。

有更多信息，请联系我司工作人员来核实。

二、荧光染料(以溶于有机溶剂的储存液形式提供)的注意事项

1) 以溶于有机溶剂的储存液形式的荧光探针相对来说是比较稳定的化合物;但收到这类产品，也需用户根据单次用量(5-10ul/管来分装) ，-20°C以下密封避光保存，减少反复冻融次数。

2)请务必用密封性好且螺旋盖的低容量冻存管保存(不可用EP管) 。务必避光

有更多信息，请联系我司工作人员来核实。

产品描述

MitoTracker Deep Red FM是一种远红外荧光染料(吸收/发射波长分别为~644/665 nm)，可染色活细胞中的线粒体,用于线粒体定位。该染料在醛固定后可良好保留，甚蛭后续的去污剂透化处理后仍可保留。

注意事项

1) 本品非常少,使用前低速离心后直接加适当溶剂溶解使用，切勿分装称量。

2)整个染色过程中需注意避光。

3)为了您的安全和健康,静实验服并戴- -次性手套操作。

使用方法

1.储存液的配制

使用前，先将本品取出回温至室温，并对其进行简单低速离心使溶液降至管底。之后加入91.9828μL高质无水的DMSO溶解MitoTracker Deep Red FM (Mw=543.58 g/mol)， 使其浓度为1mM。储存液最好能现用,若用不完，请根据单次用量分装,≤-20°C避光保存。

2.工作液的配制

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。

利用培养基或合适的缓冲液将1 mM储存液稀释至工作浓度，工作液需现配现用。常用的工作浓度范围是25 -500nM,但对于后续需要进行固定和透化的细胞染色，建议使用工作浓度范围在100- 500nM。为了降低探针加载过度可能引起的假阳性,建议在不影响染色效果的情况尽量使用低浓度。

3.染色步骤(贴壁细胞)

1)将细胞置于培养皿中的盖玻片上,加入合适培养基,使其爬片生长。

2)待细胞生长到合适密度,吸除培养液,加入适量37°C预热的含探针培养基。于特定的生长状态下孵育15～45min (具体孵育时间需根据细胞类型而定)。

3)利用新鲜培养基替换上述染色液并在荧光显微镜(含合适滤片)或荧光酶标仪下观察。若细胞需固定和透化,参考染后的固定和透化流程。

4.染色步骤(悬浮细胞)

1)离心沉淀细胞,吸除上清。

2)利用37°C预热的含探针培养基重悬细胞，于特定的生长状态下孵育15～45min (具体时间需根据细胞类型而定)。

3)离心，吸除染色液,加入新鲜培养基重悬细胞。

4)用含合适滤片的流式细胞仪、基于酶标板的分析仪或荧光显微镜观察。如果需要将细胞固定在盖玻片上,于涸片前用poly-D-lysine包被载玻片或者盖玻片。若细胞后续需要固定或透化，参考染色后的固定和透化流程。

5.染色后的固定和透化流程

1)染色后, 用新鲜预热的缓冲液或生长培养基清洗细胞;

2)小心吸掉覆盖细胞的缓冲液或培养基,用含2- 4%多聚甲醛的新鲜配制预热的缓冲液或培养基来固定。研究显示内皮细胞用3.7%多聚甲醛溶液于37°C固定约15min ;效果很好。

3)固定之后， 用缓冲液清洗细胞几次;

4) [可选] 若后续步骤如ICC需要透化,则用含表面活性剂如Triton X- 100的缓)冲液来透化细胞。一旦透化结束， 用缓冲液清洗细胞并进行后续lCC流程。研究显示,用含0.2% Triton X-100的PBS缓冲液透化内皮细胞10min效果很好。

做为备选方案，细胞也可以用冰丙酮透化处理5min,之后用PBS清洗。即使后续细胞不用进行其它抗体标记，这一丙酮透化步骤也可能改善信噪比。

保质期：-20℃，12个月