

MitoTracker® Red CMXRos 线粒体红色荧光探针

货号: M9940

规格: 50 μ g

保存: -20 $^{\circ}$ C 避光干燥保存。

产品说明：

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 (Ex=579 nm, Em=599 nm), 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。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。本品适合双标实验, 因其红色荧光与其他的绿色荧光探针具有良好的分辨率。

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。

产品性质：

CAS 号 (CAS NO.): 167095-09-2

分子式 (Formula): C₃₂H₃₂Cl₂N₂O

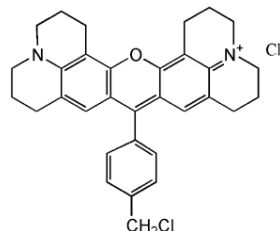
分子量 (Molecular weight): 531.52

外观 (Appearance): 紫色固体

激发波长 (Ex): 579 nm

发射波长 (Em): 599 nm

结构式 (Structure):



使用方法

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。本品M. Wt.= 531.52 g/mol, 换算下来, **50 μ g**粉末只需加入**94 μ L 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后放到-20 $^{\circ}$ C 避光, 避免反复冻融。

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。

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25-500 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、DMSO有毒，使用时请小心操作。

2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。