



线粒体荧光染料 (Mito) 说明书

【产品名称】

中文名: 线粒体荧光染料 (Mito)

【包装规格】

型号	70-MJ102-100 (5 μ L/Test)
规格	100 人份

【产品描述】

线粒体荧光染料是一种细胞渗透型的 carbocyanine-based 的深红外红色荧光探针 (Ex=644 nm, Em=665 nm), 包含标记线粒体的弱巯基反应性的氯甲基官能团, 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。

【主要组成成分】

线粒体荧光染料、PBS 缓冲液、DMSO。

【贮存条件】

-20 $^{\circ}$ C 避光储存

【检验方法】

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 $^{\circ}$ C 预热的线粒体荧光染料。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。

2) 悬浮细胞的染色离心收集细胞, 吸除上清, 利用 37 $^{\circ}$ C 预热的线粒体荧光染料轻轻重悬细胞。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 $^{\circ}$ C 预热的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。

【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。
- 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 10 min 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。