

## MitoTracker Red CM-H<sub>2</sub>XRos

Cat# CF0503

### 产品概述

细胞渗透的 MitoTracker Probes 含有轻度巯基反应性氯甲基基团，可用于标记线粒体，并且固定后可被保留在线粒体中。为了标记线粒体，只需用 MitoTracker Probes 孵育细胞，该类探针能够被动扩散穿过质膜并积聚在活性线粒体中。一旦线粒体被标记，细胞就可用含醛基固定剂处理，以便进一步处理样品。在一些实验操作步骤中（如：免疫细胞化学或者原位荧光杂交），用某些去污剂渗透细胞后，一些 MitoTracker Probes 也依然能被保留。此外，MitoTracker Probes 分析致病性细胞的另一优势是，致病性细胞线粒体被染色后，依然可在样本进行分析之前固定细胞。

传统的线粒体荧光染料，如四甲基罗丹明甲基酯（TMRM）和罗丹明 123，如果细胞线粒体功能正常，则可发出荧光信号；一旦线粒体膜电位丢失，传统的线粒体荧光染料则容易被洗出。从而限制了传统染料在需要用醛类固定剂或其他影响线粒体功能的试剂处理细胞的实验中的使用。MitoTracker Probes 克服了这一限制，不仅可在活跃线粒体聚集，而且可在固定细胞中保留荧光。MitoTracker Probes 的分子量、光谱特性以及是否适用于固定细胞等信息详见图 1 和表 1。

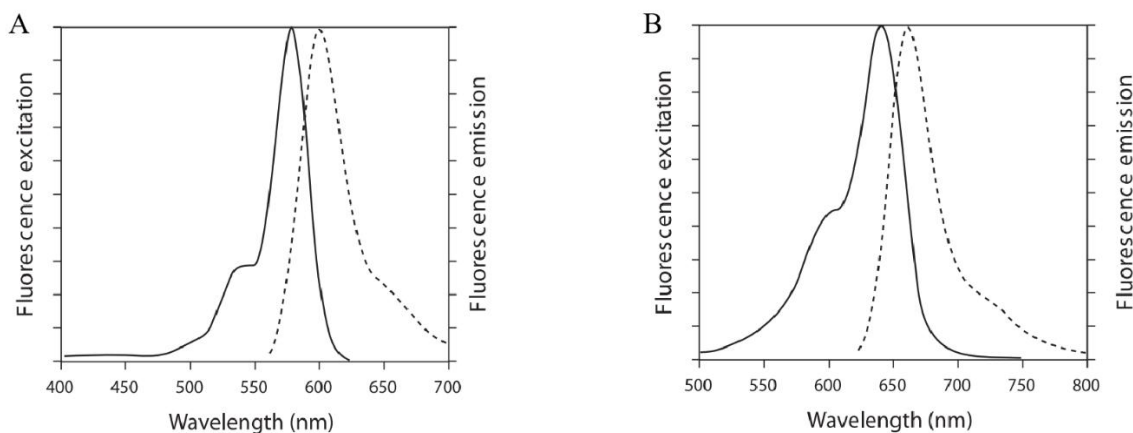
**表 1. MitoTracker 探针的分子量、光谱特性**

货号	产品名称	分子量 (MW)	Ex (nm) *	Em (nm)*	氧化还原状态	固定后保留
CF0503†	MitoTracker Red CM-H <sub>2</sub> XRos	497.08	579	599	Reduced	Yes
CF0502	MitoTracker Red CMXRos	531.52	579	599	Oxidized	Yes
CF0504	MitoTracker Deep Red FM	543.58	644	665	NA	Yes

\*在甲醇中测定的荧光激发(Ex)和发射(Em)最大值；数值在不同细胞环境中可能有所不同

†氧化前无荧光。NA =不适用

**图 1. Red CMXRos (A)和 MitoTracker Deep Red (B)的荧光激发和发射光谱（所有光谱均在甲醇中测定）**



### 产品/组分信息

产品名称	货号	规格
MitoTracker Red CM-H <sub>2</sub> XRos	CF0503-50µG	50 µg

## 储存方式

-25°C ~ -15°C ; 干燥避光; 避免反复冻融。

## 使用说明

在打开小瓶之前, 让产品恢复至室温。

制备原液: 将冻干的 MitoTracker 产品溶解于无水二甲基亚砜 (DMSO) 中至终浓度为 1 mM; 实验方案仅作为参考, 每种细胞类型的最佳标记条件应根据具体情况确定。还原型罗丹明 MitoTracker® 探针 (如 Cat#CF0503) 的加载浓度要比其他 MitoTracker® 探针高 3-5 倍。

## 细胞制备及染色

**1. 配制染色液** 在适当的缓冲液或生长培养基中稀释 1 mM MitoTracker 原液至最终工作浓度。由于 MitoTracker Probes 的还原形式易受血清中潜在氧化酶的影响, 我们不建议使用含有这些染料的完整培养基。

一般情况下: 使用 25-500 nM 的工作浓度。对于待固定和渗透的染色细胞 (见步骤“染色后的固定和渗透”), 使用 100-500 nM 的工作浓度。为了减少潜在的背景伪影和线粒体毒性, 请尽可能降低染料的浓度。高浓度的 MitoTracker 用量可能会染色其他细胞结构。

**2. 贴壁细胞染色** 培养细胞。选择合适的培养基, 在培养皿内的爬玻片上培养细胞。当细胞达到所需密度时, 从培养皿中吸走培养基, 加入预热至 37°C 含有 MitoTracker Probes 的染色溶液。孵育时间取决于所使用的细胞培养体系和探针, 但在适合特定细胞类型的生长条件下孵育 15-45 分钟通常是足够的, 但可能也需要优化。染色完成后, 用新鲜的预热培养基或缓冲液替换染色溶液, 使用荧光显微镜或荧光微孔板读取器观察细胞。如果细胞需要被固定和渗透, 请继续进行染色后继续固定和渗透处理。

**3. 悬浮细胞染色** 离心获得细胞颗粒并弃去上清。将细胞轻悬于预热至 37°C 含有 MitoTracker Probes 的染色溶液。孵育时间取决于所使用的细胞培养体系和探针, 但在适合特定细胞类型的生长条件下孵育 15-45 分钟通常是足够的, 但可能也需要优化。染色完成后, 离心沉淀细胞, 并在新鲜的预热培养基或缓冲液中重悬细胞。细胞可通过流式细胞术、微孔板分析或荧光显微镜进行分析。如果需要在盖玻片上固定细胞, 需提前使用多聚赖氨酸包被盖玻片。如果细胞需要被固定和渗透, 详见步骤“染色后的固定和渗透”。

## 可选: 染色后固定和渗透

**1. 清洗细胞** 染色后, 使用预热的缓冲液或培养基清洗细胞。

**2. 固定细胞** 小心地除去覆盖细胞的缓冲液/培养基, 并用含有 2-4% 甲醛的现配的、预热的缓冲液或培养基代替。对于 MitoTracker Red CMXRos, 用 3.7% 甲醛在 37°C 的完全培养基中固定 15 分钟对 endothelial 细胞效果良好。

**3. 冲洗细胞** 固定后, 使用缓冲液冲洗细胞数次。

**4. 渗透性(可选)** 当后续实验步骤需要渗透时 (如免疫细胞化学实验), 将固定细胞在含有去污剂 (如 Triton X-100) 的缓冲液中孵育。渗透后, 用缓冲液冲洗细胞, 进行免疫细胞化学实验。我们发现 endothelial 细胞在含有 0.2% Triton X-100 的 PBS 缓冲液中孵育 10 分钟效果不错。或者, 细胞可以通过在冰冷的丙酮中孵育 5 分钟, 然后在 PBS 中洗涤来渗透。即使细胞不打算用抗体标记, 这种丙酮渗透步骤也可能有助于提高信噪比。

## Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: [www.cytoch.com](http://www.cytoch.com).

Or contact us by:

E-mail: [support@cytoch.com](mailto:support@cytoch.com)

Tel: 400-969-8881

For research use only.

