

## 线粒体深红色荧光染色试剂盒(Mito-Tracker Deep Red FM)

产品编号	产品名称	包装
C1998S	线粒体深红色荧光染色试剂盒(Mito-Tracker Deep Red FM)	50-500次
C1998M	线粒体深红色荧光染色试剂盒(Mito-Tracker Deep Red FM)	200-2000次

### 产品简介:

- 碧云天的线粒体深红色荧光染色试剂盒(Mito-Tracker Deep Red FM), 即Mitochondrial Deep Red Fluorescence Staining Kit with Mito-Tracker Deep Red FM, 是基于线粒体深红色荧光探针Mito-Tracker Deep Red FM用于活细胞线粒体特异性荧光染色的试剂盒。本试剂盒适用于荧光显微镜、激光共聚焦显微镜、流式细胞仪等荧光检测设备。本试剂盒不能用于固定细胞的染色, 但本试剂盒染色后可以进行固定。
- Mito-Tracker Deep Red FM (线粒体深红荧光探针), 是一种具有细胞通透性、能够特异地标记细胞中具有生物活性的线粒体, 并检测线粒体膜电位的线粒体深红荧光探针。本产品为高纯度探针, 可以兼容后续的细胞固定和通透, 但染色后再固定和通透, 荧光强度会有一些的下降。
- 本产品是一种深红荧光染料, 只需简单地和细胞孵育, 即可通过被动运输穿过细胞膜, 并借助本探针含有的弱巯基反应性的氯甲基(mildly thiol-reactive chloromethyl)官能团特异性地标记有生物活性的线粒体。本探针含有的弱巯基反应性的氯甲基, 可以和线粒体内蛋白的巯基反应并共价连接, 因此后续实验使用多聚甲醛或甲醛等醛类固定剂, 以及细胞通透的去垢剂Triton X-100等处理时, 线粒体的荧光标记不会消失, 但可能会有一定程度的下降(约下降2-8倍)。由于本荧光探针的激发光谱和发射光谱与常见的绿色和红色荧光探针通常不会重叠, 因此非常适合用于多重荧光染色实验。
- Mito-Tracker Deep Red FM分子式为 $C_{34}H_{36}Cl_2N_2$ , 分子量为543.58, Mito-Tracker Deep Red FM为深红荧光探针, 最大激发波长为644nm, 最大发射波长为665nm。Mito-Tracker Deep Red FM的化学结构式以及激发光谱和发射光谱参考图1。

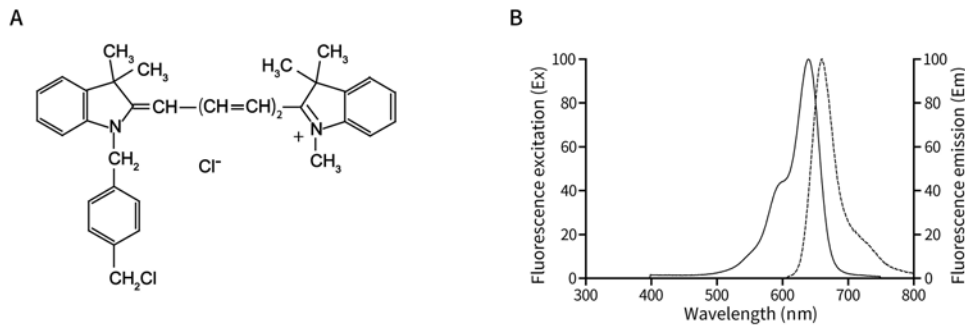


图1. Mito-Tracker Deep Red FM的化学结构式(A)及激发光谱和发射光谱(B)。

- Mito-Tracker Deep Red FM可以用作线粒体特异性的荧光探针[1]。和Rhodamine 123或JC-1相似, Mito-Tracker Deep Red FM对于线粒体的染色依赖于线粒体膜电位, 因此该探针只能对活的细胞或组织进行染色, 不能对固定或通透后的细胞或组织进行染色。使用Mito-Tracker Deep Red FM染色细胞线粒体效果参考图2。

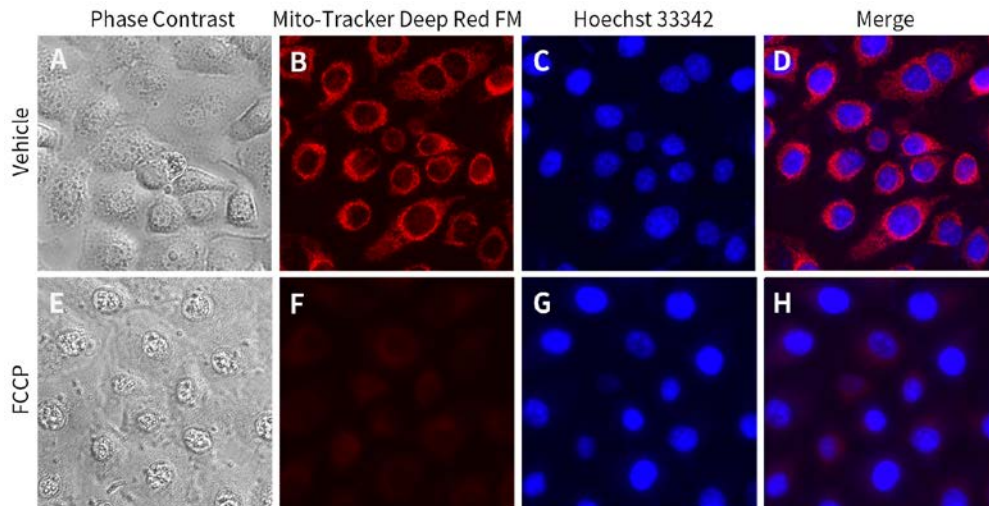


图2. 碧云天线粒体深红色荧光染色试剂盒(Mito-Tracker Deep Red FM) (C1998)对于HeLa细胞(人宫颈癌细胞)的染色效果图。经本试剂盒中Mito-Tracker Deep Red FM染色的HeLa活细胞线粒体呈现红色荧光(图B), Hoechst 33342染色的HeLa细胞的细胞核呈蓝色荧光(图C)。FCCP处理15分钟后线粒体膜电位下降, 线粒体红色荧光强度明显降低(图F)。线粒体红色荧光和细胞核蓝色荧光的叠加(Merge)效果见图D、H。本图仅作参考, 实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异。

- 由于Mito-Tracker Deep Red FM在线粒体内的聚集依赖于线粒体的膜电位, 因此本产品也可以作为线粒体膜电位的指示探针, 并可以通过检测线粒体膜电位的变化来检测细胞凋亡。
- 对于96孔板中的样品, 按照每孔使用100 $\mu$ l染色液计算, 本试剂盒的小包装和中包装可以进行500次和2000次检测; 如果用于流式细胞仪检测, 按照每个样品的检测体系体积为0.5ml时, 本试剂盒的小包装和中包装可以进行100次和400次检测; 对于6孔板中的贴壁培养细胞样品, 按照每孔使用1ml染色液计算, 本试剂盒的小包装和中包装可以进行50次和200次检测。

#### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C1998S-1	Mito-Tracker Deep Red FM (1000X)	50 $\mu$ l
C1998S-2	Hoechst 33342 (1000X)	50 $\mu$ l
C1998S-3	FCCP (1000X)	20 $\mu$ l
C1998S-4	Assay Buffer	120ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C1998M-1	Mito-Tracker Deep Red FM (1000X)	200 $\mu$ l
C1998M-2	Hoechst 33342 (1000X)	200 $\mu$ l
C1998M-3	FCCP (1000X)	80 $\mu$ l
C1998M-4	Assay Buffer	500ml
—	说明书	1份

#### 保存条件:

-20 $^{\circ}$ C保存, 一年有效。其中Mito-Tracker Deep Red FM (1000X)和Hoechst 33342 (1000X)须避光保存。

#### 注意事项:

- Mito-Tracker Deep Red FM (1000X)反复冻融对于其检测效果有影响, 请适当分装, 避免反复冻融。
- 染色后宜尽快检测, 时间过长可能会导致凋亡或坏死细胞的数量增加以及线粒体形态发生显著变化。
- 本试剂盒可以用于活细胞的线粒体荧光标记, 但不适合用于固定后细胞的标记。如需固定后标记, 推荐线粒体绿色荧光染色试剂盒(Mito-Tracker Green) (C1996)。标记后再固定, 荧光染色效果会有一定程度的下降, 建议提高Mito-Tracker Deep Red FM的浓度。如需进一步通透处理, 推荐使用免疫染色通透液(Saponin) (P0095)。
- 对于微量的液体, 每次使用前先离心数秒钟, 使液体充分沉降到管底。
- 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。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明:

##### 1. 染色工作液的配制。

对于6、12、24、96孔板, 每孔所需的染色工作液(Working Solution)的用量分别为1ml、500 $\mu$ l、200 $\mu$ l和50-100 $\mu$ l。根据样品数量, 计算所需检测工作液的体积。以12孔板每孔500 $\mu$ l染色工作液的体系为例, 参考下表配制检测工作液。

Samples	1	5	10	20
Mito-Tracker Deep Red FM (1000X)	0.5 $\mu$ l	2.5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	10 $\mu$ l
Hoechst 33342 (1000X)	0.5 $\mu$ l	2.5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	10 $\mu$ l
Assay Buffer	499 $\mu$ l	2.495ml	4.99ml	9.98ml
<b>Working Solution</b>	<b>500<math>\mu</math>l</b>	<b>2.5ml</b>	<b>5ml</b>	<b>10ml</b>

注1: 染色工作液需现用现配, 并一次性使用完毕, 不可冻存。

注2: 染色工作液中的Mito-Tracker Deep Red FM (1000X)和Hoechst 33342 (1000X)的最终浓度需根据不同细胞系和实验体系通过预实验进行优化, 上表中的用量为推荐用量。

注3: 本试剂盒中提供的Assay Buffer在一段时间内可以维持细胞的正常状态, 并给细胞提供一定的营养, 效果通常比PBS或HBSS更好, 也可以使用Assay Buffer外的其它合适的缓冲液, 如含血清完全培养液、无血清培养液、HBSS (C0218)或PBS。

##### 2. 阳性对照的设置。

把试剂盒中提供的FCCP (1000X)推荐按照1:1000的比例加入到细胞培养液中, 处理细胞15分钟, 对于大多数细胞, 通常1X的FCCP处理15-20分钟后线粒体的膜电位会完全丧失, 具体处理时间可以根据细胞种类适当调整。随后按照下述步骤进行染色。

注1: 仅在阳性对照孔内加入FCCP作为阳性对照, 其余孔内不必加入FCCP。

注2: FCCP实测对于HeLa有良好效果, 但可能对某些细胞效果微弱或者完全没有效果。

### 3. 贴壁细胞的线粒体染色。

- 当细胞在细胞培养板或培养皿中培养至适当密度时, 根据实验需要进行适当处理, 然后去除细胞培养液, 加入步骤1中配制好的Mito-Tracker Deep Red FM染色工作液, 37°C孵育20-30分钟。注: 最佳孵育时间需根据细胞类型进行适当的优化。
- 去除Mito-Tracker Deep Red FM染色工作液, 加入适当体积的Assay Buffer或细胞培养液。
- 用荧光显微镜、激光共聚焦显微镜或荧光酶标仪进行观察或检测。此时可观察到线粒体呈明亮的强荧光染色。如果染色效果欠佳, 可以提高Mito-Tracker Deep Red FM染色工作液浓度或在推荐的时间范围内适当延长染色时间。

### 4. 悬浮细胞的线粒体染色。

- 1000×g离心5分钟, 弃上清, 用37°C预热的Mito-Tracker Deep Red FM染色工作液轻轻重悬细胞, 37°C孵育20-30分钟。注: 最佳孵育时间需根据细胞类型进行适当的优化。
- 孵育结束后, 1000×g离心5分钟, 弃上清, 加入适当体积的Assay Buffer或细胞培养液。
- 用荧光显微镜、激光共聚焦显微镜、流式细胞仪或荧光酶标仪进行观察、分析或检测。

### 参考文献:

- Liu Q, Zhao Y, Zhang Y, Xie K, Liu R, et al. Analyst. 2021;145(24):8016-8021.

### 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C1031	CFDA SE (细胞增殖示踪荧光探针)	5mg
C1032	Mito-Tracker Deep Red FM (线粒体深红荧光探针)	50µg/250µg
C1034	Mito-Tracker Deep Red 633 (线粒体深红荧光探针)	50µg/250µg
C1036	DiI (细胞膜红色荧光探针)	10mg
C1038	DiO (细胞膜绿色荧光探针)	10mg
C1039-10mg	DiD (细胞膜远红荧光探针)	10mg
C1041	ER-Tracker Red (内质网红色荧光探针)	20µl/100µl/500µl
C1042	ER-Tracker Green (内质网绿色荧光探针)	20µl/100µl/500µl
C1043	Golgi-Tracker Red (高尔基体红色荧光探针)	1mg
C1045S	Golgi-Tracker Green (高尔基体绿色荧光探针)	1mg
C1046	Lyso-Tracker Red (溶酶体红色荧光探针)	50µl
C1047S	Lyso-Tracker Green (溶酶体绿色荧光探针)	50µl
C1048	Mito-Tracker Green (线粒体绿色荧光探针)	50µg
C1049B	Mito-Tracker Red CMXRos (线粒体红色荧光探针)	50µg/250µg
C1050	Tubulin-Tracker Red (抗体法微管红色荧光探针)	40µl
C1051S	Tubulin-Tracker Green (抗体法微管绿色荧光探针)	40µl
C2201S	Actin-Tracker Green-488 (微丝绿色荧光探针)	0.2ml
C2203S	Actin-Tracker Red-555 (微丝红色荧光探针)	0.2ml
C2205S	Actin-Tracker Red-594 (微丝红色荧光探针)	0.2ml
C2207S	Actin-Tracker Red-Rhodamine (微丝红色荧光探针)	0.2ml
C2213S	微管绿色荧光染色试剂盒(活细胞染色用)	20-200次
C2215S	微管深红荧光染色试剂盒(活细胞染色用)	20-200次
C1996	线粒体绿色荧光染色试剂盒(Mito-Tracker Green)	50-500次/200-2000次
C1997	线粒体深红色荧光染色试剂盒(Mito-Tracker Deep Red 633)	50-500次/200-2000次
C1998	线粒体深红色荧光染色试剂盒(Mito-Tracker Deep Red FM)	50-500次/200-2000次

Version 2024.11.05