产品名称：Mitochondrial Tracker (Red)（线粒体红色荧光探针）

产品货号：RA20020

基本信息

中文名称	Mitochondrial Tracker (Red)（线粒体红色荧光探针）
英文名称	Mitochondrial Tracker (Red)
产品规格	50μg、20 x 50μg
存储条件	-20℃，避光保存
运输条件	低温
有效期	12 个月
激发/发射波长	579/599nm

产品介绍

Mitochondrial Tracker (Red)是一种红色荧光染料，含有氯甲基官能团，可标记线粒体。Mitochondrial Tracker (Red)只需与活细胞简单孵育即可被动运输穿过细胞膜并直接聚集在活性线粒体上，该染料的积累取决于膜电位的高低。一旦线粒体被染色后，还可根据后续实验的需求用醛类固定剂进行固定。对于免疫组化及原位杂交实验，细胞需先经过透化，Mitochondrial Tracker (Red)还可染色透化细胞的线粒体。该染料适合双标记实验，其红色荧光与其他的绿色荧光探针可以很好的区分开来。虽然传统的线粒体荧光探针如 TMR 和罗丹明 123，也可以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。

试剂制备

储存液的制备

用高纯度的无水 DMSO 溶解，配置成浓度为 1 mM 的储液。该染料分子量为 531.5 g/mol，计算下来，50 μg 粉末只需加入 94 μL DMSO 即可得到 1 mM 储存液。

注：①在打开试剂管前，需将本品回温至室温。

②可根据单次的使用量将储存液分装成小管，放到-20℃避光保存，避免反复冻融。

工作液的配制

根据不同的细胞及实验要求，使用的染料浓度有所不同，以下的操作条件仅作参考，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（如 PBS）或者细胞培养基稀释 1 mM 储液至工作液浓度。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降低染色液浓度。另外，浓度过高也可能对其他细胞结构进行染色。

注：由于培养基中的氧化酶会减弱染料的作用，本操作中不建议使用完全培养基对储液进行稀释。

产品名称：Mitochondrial Tracker (Red)（线粒体红色荧光探针）

产品货号：RA20020

实验步骤

贴壁细胞染色

（1） 培养皿/板内加入适量的培养基，以覆盖细胞，进行细胞爬片培养。当细胞达到足够数量，吸除培养液。

（2） 加入 37℃预热的染色工作液，细胞培养箱中孵育 15-45 min（根据实验调整孵育时间）。

（3） 染色结束后，吸除染色液，加入 37℃预热的新鲜培养液或缓冲液，在荧光显微镜下观察或荧光酶标仪下读数。或进行后续的固定和透化步骤。

悬浮细胞染色

（1） 离心收集细胞，去上清。

（2） 加入 37℃预热的染色工作液，轻轻吹打重悬细胞。细胞培养箱中孵育 15-45 min（根据实验调整孵育时间）。

（3） 染色结束后，离心收集细胞，加入 37℃预热的新鲜培养液或缓冲液重悬细胞，用流式细胞仪、酶标仪或荧光显微镜进行观察分析。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。染色后需要固定透化的可以进行后续的固定透化步骤。

细胞固定（可选）

（1）染色结束后，用培养液或缓冲液清洗细胞两次。

（2）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，本染料由含 3.7%甲醛的完全培养液于 37℃孵育内皮细胞 15 min 能起到良好的固定效果。

（3）吸除固定液，用适当缓冲液清洗细胞 2 次。

细胞透化（可选）

对于需要细胞透化的实验，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 2 次，即可进行后续实验。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. 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。
2. 为避免反复冻融，可对本产品进行小量分装。

备注：该试剂仅供科研使用！