



线粒体膜电位检测试剂盒(TMRE)

Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit with TMRE

产品简介

线粒体膜电位检测试剂盒(TMRE) (Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit with TMRE)是一种以 TMRE 为荧光探针, TMRE 是一种可渗透细胞膜的橘红色阳离子荧光探针,可在完整的线粒体中聚集,而去极化或非活跃性线粒体膜电位降低,导致 TMRE 积聚减少。能快速灵敏地检测细胞、组织或纯化的线粒体膜电位变化的试剂盒,可以用于早期的细胞凋亡检测。本试剂盒可使用荧光显微镜、流式细胞仪、荧光酶标仪等荧光检测系统进行检测。

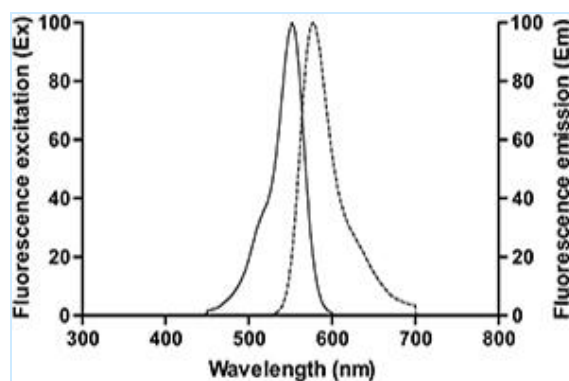
本试剂盒检测线粒体膜电位的原理如下。正常状态下的线粒体内部存在大量的负电荷,作为阳离子探针的 TMRE 进入细胞内后可聚集在线粒体基质中,可发出明亮的橘红色荧光;当细胞发生凋亡时,线粒体膜电位丢失,线粒体通透性转换孔(MPTP)持续开放, TMRE 被释放到细胞质中,线粒体内橘红色荧光强度明显下降。可用荧光显微镜、流式细胞仪、荧光酶标仪等仪器检测细胞,通过荧光信号的强弱来确定线粒体膜电位的变化和凋亡或坏死的发生。

本试剂盒可以应用于大多数的哺乳动物细胞,有报道称 TMRE 也可以用于某些酵母如 *Saccharomyces cerevisiae*。由于 TMRE 在线粒体内的积累依赖于线粒体膜电位,因此本试剂盒仅限于存活的细胞或组织的检测,不可用于固定或冻存的细胞或组织的检测。

本试剂盒提供的 TMRE 探针在线粒体内的荧光强度随线粒体膜电位的变化非常敏感,较低的浓度就可以产生明亮的荧光,并且背景清晰,非常适合用于凋亡实验中高通量检测线粒体膜电位的变化。

本品为即用型试剂盒形式提供,其中 TMRE 探针为 1000X 溶液,该溶液经过优化,对大多数细胞都适用,但为了得到满意的结果,对于不同类型的细胞请自行进行一定摸索, TMRE 的终浓度一般为 0.1X-5X,最优先的推荐终浓度为 1X。试剂盒提供的 CCCP 作为诱导线粒体膜电位下降的阳性对照,终浓度一般为 1-20 μ M,最优先的推荐终浓度为 10 μ M。同时,本试剂盒提供了检测缓冲液,该缓冲液可在一段时间内维持细胞的正常状态,并给细胞提供一定的营养,效果比 PBS 或 HBSS 更好。本公司还提供单独的探针粉末状态的(货号 CAT#:FS1369)

图 1. TMRE 的激发、发射光谱图。





产品组成

名称	编号	FS1361-100T 线粒体膜电位检测试剂盒(TMRE)	Storage
试剂 A: TMRE (1000X)		100 μ l	-20 $^{\circ}$ C 避光
试剂 B: 检测缓冲液		100ml	-20 $^{\circ}$ C
试剂 C: CCCP (10mM)		20 μ l	-20 $^{\circ}$ C
使用说明书		1 份	

检测规格: 如果用于流式细胞仪, 每个样品的检测体系体积为 0.5ml 时, 可以进行 200 次检测; 6 孔板每孔检测体系的体积为 1ml 时可以检测 100 次, 96 孔板每孔检测体系的体积为 100 μ l 时可以检测 1000 次。

保存与运输方法: -20 $^{\circ}$ C 避光干燥保存, 至少 1 年有效。 运输: 冰袋运输。

产品特性

CAS : 115532-52-0

中文名: TMRE [四甲基罗丹明, 乙酯, 高氯酸盐]

英文名: TMRE [Tetramethylrhodamine, ethyl ester, perchlorate]

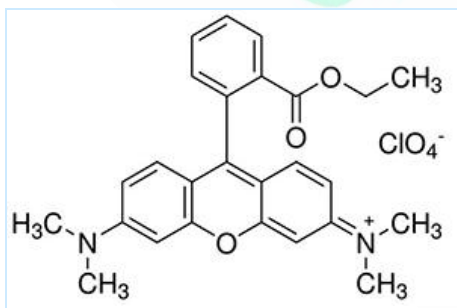
分子式: C₂₆H₂₇ClN₂O₇

分子量: 514.95

纯度: \geq 95%

Ex/Em: 550/575nm

溶解性: 溶于 DMSO



化学结构式:

使用说明

1. 储存液、工作液的制备和保存

以 6 孔板为例每孔所需 TMRE 染色工作液的量为 1ml, 其它培养器皿的 TMRE 染色工作液的用量以此类推; 对于细胞悬液每 50-100 万细胞需 0.5ml TMRE 染色工作液。取适量 TMRE (1000X), 按照每 1 μ l TMRE (1000X)加入 1ml 检测缓冲液的比例稀释 TMRE, 混匀后即 TMRE 染色工作液。

【注①】: 配制 TMRE 染色工作液时注意避光, 且须现配现用, 不能长期保存。

【注②】: 本试剂盒中提供的检测缓冲液含有 Ca²⁺, 能够在一段时间内维持细胞的正常状态, 并给细胞提供一定的营养,



效果比 PBS 或 HBSS 更好；检测缓冲液也可用细胞培养液代替，但培养液中不能含有血清，否则会影响 TMRE 的染色效果。

【注③】：染色工作液中 TMRE 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。TMRE 的推荐工作浓度为 1X，可以在 0.1X-5X 范围内摸索最佳工作浓度。

2.阳性对照的设置

把试剂盒中提供的 CCCP (10mM)推荐按照 1:1000 的比例加入到细胞培养液中，稀释至 10 μ M，处理细胞 20 分钟。随后按照下述方法加入 TMRE 染色工作液，进行线粒体膜电位的检测。对于大多数细胞，通常 10 μ M CCCP 处理 20 分钟后线粒体的膜电位会完全丧失，TMRE 染色后观察应呈弱红色或几乎无荧光；而正常的细胞经 TMRE 染色后应显示明亮的红色荧光。

对于特定的细胞，CCCP 的作用浓度和作用时间可能有所不同，需自行参考相关文献资料或自行摸索确定。

3.对于悬浮细胞

3-1. 细胞按照实验设计进行一定处理后，计数。取适量细胞 600 \times g 室温离心 5min，弃上清，加入适当体积的 TMRE 染色工作液重悬细胞，使细胞密度约为 1 \times 10⁶/ml。

3-2. 细胞培养箱中 37 $^{\circ}$ C 孵育 15-45min，不同的细胞最佳孵育时间不同。以 15min 作为初始孵育时间，对孵育时间进行适当优化以得到最佳的效果。

3-3. 37 $^{\circ}$ C 孵育结束后，600 \times g 室温离心 5min，沉淀细胞。吸除上清，注意尽量不要触及细胞。

3-4. 用 37 $^{\circ}$ C 预热的细胞培养液洗涤 2 次：加入 1ml 37 $^{\circ}$ C 预热的细胞培养液重悬细胞，600 \times g 离心 5 分钟，沉淀细胞，弃上清。再加入 1ml 37 $^{\circ}$ C 预热的细胞培养液重悬细胞，600 \times g 离心 5 分钟，沉淀细胞，弃上清。

3-5. 再用适量细胞培养液重悬后，用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察，也可以用荧光酶标仪或流式细胞仪分析。

4.对于贴壁细胞

【注意】：对于贴壁细胞，如果希望采用荧光酶标仪或流式细胞仪检测，可以先收集细胞，重悬后参考悬浮细胞的检测方法。荧光酶标仪如果能采用底读的方式进行荧光检测，也可以使用 96 孔板等进行贴壁培养检测的。

4-1. 对于 6 孔板的一个孔的细胞，吸除培养液，根据具体实验如有必要可以用 PBS 或其它适当溶液洗涤细胞一次。

4-2. 加入 1ml TMRE 染色工作液。细胞培养箱中 37 $^{\circ}$ C 孵育 15-45min，不同的细胞最佳孵育时间不同。以 15min 作为初始孵育时间，对孵育时间进行适当优化以得到最佳的效果。

4-3. 37 $^{\circ}$ C 孵育结束后，吸除上清，用预热的细胞培养液洗涤 2 次。

4-4. 加入 2ml 预热的细胞培养液，培养液中可以含有血清和酚红。

4-5. 荧光显微镜或激光共聚焦显微镜下观察。

5.对于纯化的线粒体

5-1. 准备好 TMRE 染色工作液。

5-2. 0.9ml TMRE 染色工作液中加入 0.1ml 总蛋白量为 10-100 μ g 纯化的线粒体。

5-3. 用荧光酶标仪或荧光分光光度计检测：混匀后直接用荧光分光光度计进行时间扫描(time scan)，激发波长为 550nm，发射波长为 575nm。如果使用荧光酶标仪，可在软件中把检测对象设置为 Rhodamine 或 Texas Red，即可以检测 TMRE。另外，也可以参考下面步骤 6 中的波长设置进行荧光检测。

5-4. 用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察：方法同下面的步骤 6。

6.荧光观测和结果分析



TMRE 的最大激发波长为 550nm, 最大发射波长为 575nm。【注意】: 此处测定荧光时不必把激发光和发射光波长设置在最大激发波长和最大发射波长。如使用荧光显微镜观察, 可以参考观察 Rhodamine 或 Texas Red 等其它红色荧光探针时的设置。红色荧光变弱说明线粒体膜电位下降, 并且该细胞很可能处于细胞凋亡早期。通过对比实验组与阴性对照组测量的 Relative fluorescence values (RFU), 可以得出药物处理后线粒体内 TMRE 探针荧光强度的变化。此处的阴性对照为仅含检测缓冲液的未经染色的细胞样品。

注意事项

- 1) 探针染料存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。
- 2) 本试剂盒仅限于进行存活的细胞或组织的检测, 不可用于固定或冻存的细胞或组织样品的检测。
- 3) 检测缓冲液经过过滤除菌处理, 在使用时须注意避免微生物污染, 否则很可能严重影响染色效果。如果检测缓冲液发生浑浊等明显的微生物污染, 就不能继续使用。
- 4) CCCP 为线粒体电子传递链抑制剂, 对人体有害, 操作时请小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 5) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品

产品货号	产品名称	规格
FS1166	JC-10 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit 线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)	100T
FS1169	JC-10 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit JC-10 线粒体膜电位检测试剂盒	100T
FS1171	Rhodamine 123 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit 罗丹明 123 线粒体膜电位检测试剂盒	100T
FS1179	CCCP (50 mM) 凋亡诱导剂/质子载体	100UL
FS1197	CDCFDA, SE 活细胞荧光示踪探针 CDCFDA, SE	25MG
FS0459	Dihydroethidium 超氧化物阴离子荧光探针	5MG
FS1189	DiO (DiOC18(3)) 细胞膜绿色荧光探针	10MG
FS1190	DiI (DiIC18(3)) 细胞膜橙红色荧光探针	10MG
FS1193	DiR Iodide (DiIC18(7)) 细胞膜深红色荧光探针	5MG
FS1194	DiA 细胞膜荧光探针	25MG
FS1204	DAPI 细胞核探针	10MG
FS1218	BCECF, AM pH 荧光探针	50UG
FS1219	Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50UG
FS1221	Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50UG