



MitoTracker Orange CMTMRos 橙色线粒体荧光探针

产品简介

MitoTracker Orange CMTMRos 是一种橙色荧光染料，用于对活细胞线粒体进行染色，并且该染料的积累取决于膜电位。乙醛固定后，该染料可稳定保存。

本产品是一种氧化型的橙色荧光染料，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 2-10 倍)。由于本荧光探针的激发光谱和发射光谱与常见的绿色荧光探针重叠较少，因此非常适合用于荧光双标实验。

MitoTracker Probes 系列探针专题：

1.传统线粒体探针的缺点：

传统线粒体探针如罗丹明 123 (Rhodamine 123) 虽然可立即聚集在功能线粒体上，然而，一旦线粒体膜电位丧失，这些探针就能很容易清洗掉离开细胞。当碰到细胞需要进行醛类固定或细胞内含影响膜电位药物的实验中，这些探针则受到限制，不可使用。

2.MitoTracker 线粒体探针的优点

Mitotracker 正克服传统探针的缺点而被生产，其能够聚集在活线粒体上，并且细胞固定中也能良好维持。其中，Mitotracker orange, red, and deep red 这三种探针经透化 (permeabilization) 后仍能良好维持。在接下来免疫细胞化学 (ICC)、原位杂交 (ISH) 或电镜实验的处理步骤中样本仍保留线粒体的活细胞染色形态。另外，Mitotracker 探针去除病原细胞线粒体染色可能遇到的一些问题，因为一旦线粒体染色后，细胞即可被固定然后进行结果分析。

MitoSOX Red Mitochondrial Superoxide Indicator, 一种新型线粒体荧光探针，可特异性靶向线粒体，从而选择性检测线粒体内的超氧化物。该探针可透过活细胞膜，并选择性进入线粒体。一旦进入线粒体，该探针即可被超氧化物氧化发出红色荧光。本品可被超氧化物而非其他活性氧类(ROS)和活性氮类(RNS)快速氧化。氧化产物结合核酸后，可产生大量荧光。本品以粉末形式提供。

产品组成

名称	编号	Storage
MitoTracker Orange CMTMRos 橙色线粒体荧光探针	FS1363 50ug	-20℃ 避光干燥保存
使用说明书	1 份	

保存及运输：-20℃避光干燥保存，至少 1 年有效。运输：冰袋运输。



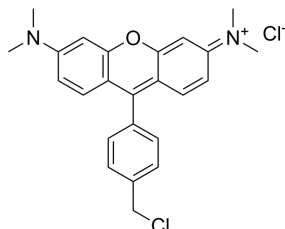
产品特性

CAS: 199116-50-2

分子式: $C_{24}H_{24}Cl_2N_2O$

分子量: 427.37

外观: 棕黑色固体 (purple solid)



结构式:

溶解性: DMSO (1mM)

Ex (nm)/Em(nm):554-576

使用方法

1. 储存液的配制

本品是以粉末形式提供,使用前需将本品回温至室温。之后使用细胞培养级别的无水 DMSO (CAT:FS0306) 将其充分溶解至终浓度 1 mM。50 μ g 粉末只需加入 117 μ L DMSO 即可得到 1 mM 储存液。根据单次的用量将储存液分装后放到-20 $^{\circ}$ C 避光,避免反复冻融。**[注意]:**由于本品是还原型的化合物,对氧气相当敏感,特别是在溶液中,为了保持产品的稳定性,产品分装后充氮气或者氩气等惰性气体以防止在冻存的过程中被氧化。

2. 工作液的配制

用适当的缓冲液或者细胞培养基稀释 1 mM 储存液至工作液浓度。一般推荐使用浓度为 25-500nM。(【注】根据不同的实验目的使用不同的探针浓度,以下的起始操作条件仅作参考,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。)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低浓度染色。另外,浓度过高也可能对其他细胞结构进行染色。

3. 染色及检测

3.1 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 MitoTracker Orange CMTMRos 染色工作液。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,见步骤 4。

3.2 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 MitoTracker Orange CMTMRos 染色工作液轻轻重悬细胞。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 预热的新鲜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,见步骤 4。

4. 固定和透化

4.1 染色结束后,利用培养液或缓冲液清洗细胞。

4.2 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。经验证,本染料 MitoTracker Orange CMTMRos 由含 3.7% 甲醛的完全培养液于 37 $^{\circ}$ C 孵育内皮细胞 15min 能起到良好的固定效果。

联系电话: 400-998-5068 所有产品仅用作科学研究使用 网址: <http://www.fsbio-mall.com>

Shanghai Fushen Biotech Co.,Ltd 或者简称(FUSHENBIO ,China) ,(FUSHENBIO ,Shanghai,China)



4.3 清洗细胞：吸除固定液，用适当缓冲液冲洗细胞数次。

4.4 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 10min 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

货号	名称	规格
FS0306	二甲基亚砜 DMSO (细胞培养级)	100ml
FS1348	FeRhoNox-1 (Fe ²⁺ indicator) 亚铁离子荧光探针	50ug
FS1353	MitoTracker®Red CMXRos 红色线粒体荧光探针	50ug
FS1354	MitoTracker®Red CM-H2XRos 红色线粒体荧光探针	50ug
FS1355	MitoTracker®Green FM 绿色线粒体荧光探针	50ug
FS1356	MitoTracker®Deep Red FM 深红色线粒体荧光探针	50ug
FS1359	BODIPY 558/568 C12 脂质转运荧光探针	1mg
FS1360	C11 BODIPY 581/591 脂质过氧化荧光探针	1mg
FS1363	MitoTracker Orange CMTMRos 橙色线粒体荧光探针	50ug
FS1166	JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒	100T
FS1169	JC-10 线粒体膜电位检测试剂盒	100T