

# Smart Cell 线粒体染色试剂盒 NIR 使用说明书

## 产品描述

线粒体(mitochondrion)是一种存在于大多数真核细胞中的两层膜结构的细胞器，是细胞中的“能量工厂”(cellular power plants)，生产了细胞所需的大部分ATP，除了为细胞提供能量外，还涉及诸如细胞分化、细胞信息传递和细胞凋亡等过程，并拥有调控细胞生长和细胞周期的能力。已有文献报道，线粒体还与线粒体失调症、心脏功能障碍、衰老等人类疾病有关。尽管大部分细胞遗传物质DNA在细胞核内，但线粒体拥有独立的基因组，呈现母性遗传。基于以上特点，线粒体是生物、生命科技领域的研究热点。

Smart Cell 染色试剂盒是 Life-iLab 公司专门研发的一类荧光成像工具，试剂盒设计严谨，需人为手动操作的步骤很少。可用来标记细胞器、亚细胞等结构，例如细胞膜、线粒体、线粒体和细胞核等。

Smart Cell 线粒体染色试剂盒可以标记活细胞中的线粒体，使之带红色荧光( $Ex/Em = 640/659\text{nm}$ )(Cy5 filter)。本试剂盒使用染料为一种疏水性复合物，属线粒体选择性染料，该染料能轻易进入活细胞内，通过线粒体膜电位变化渗透进入线粒体，并在线粒体中富集。Smart Cell 线粒体染色试剂盒提供了标记线粒体的全套试剂，能提供蓝色/绿色/红色/橙色等不同荧光供选择，既可单独使用，也支持对细胞的多重荧光分析。这种高效的细胞标签为从空间上和时间上研究发生的细胞活动提供了一种十分有效的方法。

## 试剂盒组分

组分	数量
Component A: MitoView NIR 染料	100 µL (500 X DMSO stock solution)
Component B: 活细胞染色缓冲 液	50 mL

## 使用方法

### 1. 准备线粒体染色液

- 1.1 室温避光放置 5-10 分钟，预热 MitoView NIR 染料 (Component A)。
- 1.2 取 20µL 预热好的 MitoView NIR 染料 (Component A)，用 10 mL 活细胞染色缓冲液 (Component B) 进行稀释。

注意：1) 20 µL MitoView NIR 染料 (Component A) 足够完成 1 块 96 孔板实验，剩余的 MitoView NIR 染料 (Component A) 可以根据需要分装避光保存于-20°C，避免反复冻融。2) 最佳染料浓度根据具体应用会有不同，染色条件根据细胞类型、细胞或组织的染料渗透性不同可以进行调整优化。

### 2. 细胞染色

- 2.1 贴壁细胞：在 96 孔板 (100µL) 或培养皿内培养细胞，当细胞达到 70-80%融合度，在 96 孔板或培养皿内添加等体积的染色工作液(步骤 1.2)，在 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 条件下培养细胞 30 分钟-2 小时。

用 HHBS [含 20mM Hepes 的 Hanks 缓冲液]或用自配 Buffer(Hanks Buffer 与生长培养基按 1:1)替换染色液。同 TRITC 设置在显微镜下进行荧光观察。

注意：如果细胞没有充分染色，可以适当增加染料浓度或增加染色时间进行改善

2.2 悬浮细胞：在 1000 rpm 条件下离心细胞培养液 5 分钟，弃去上清，用预热好的细胞培养液温和的重悬细胞，然后添加等体积的染色工作液(步骤 1.2)，在 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 条件下培养细胞 30 分钟-2 小时。用 HHBS [含 20mM Hepes 的 Hanks 缓冲液]或用自配 Buffer(Hanks Buffer 与生长培养基按 1:1)替换染色液。同 Cy5 设置在显微镜下进行荧光观察。

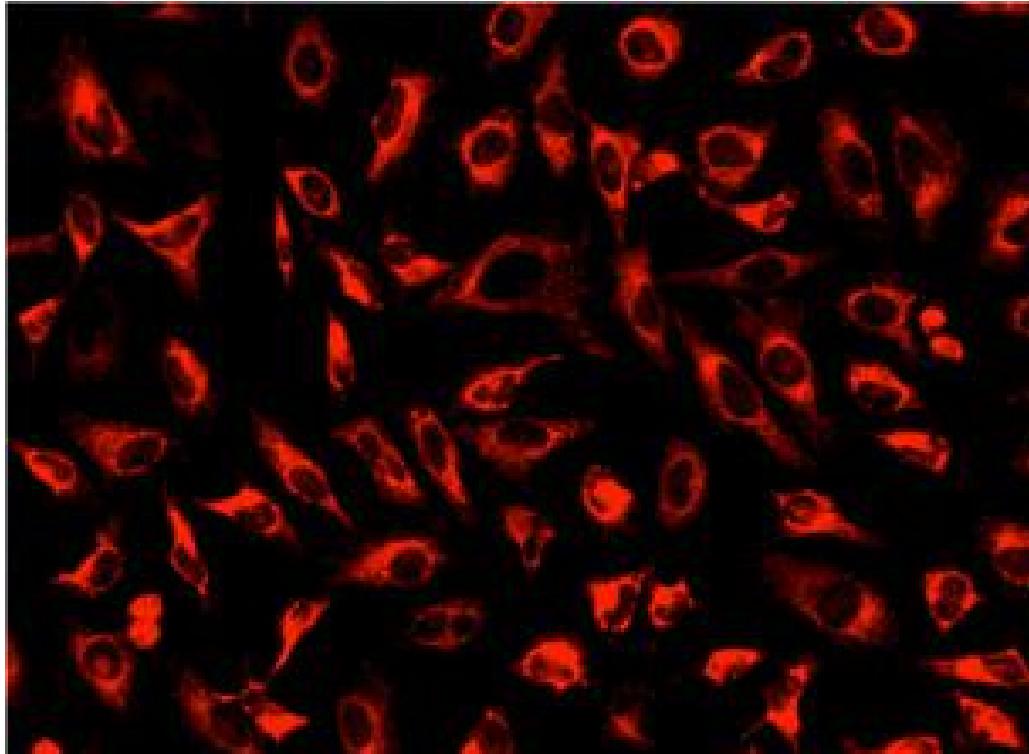


图 1：HeLa 细胞用 SmartCell 线粒体染色试剂盒 NIR 染色后进行成像分析  
(所用 96 孔板为 Costar black)