

Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1000X)

产品编号	产品名称	包装
C1439S	Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1000X)	50μl
C1439M	Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1000X)	250μl

产品简介:

- 碧云天的Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1000X) (Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos Staining Solution, 1000X), 是一种快速、便捷的用于3D培养的细胞球或类器官等的活细胞线粒体染色和线粒体膜电位检测的溶液。仅需染色10分钟就可在荧光显微镜下观察到非常明亮的活细胞线粒体红色荧光染色。
- Mito-Tracker Red CMXRos (线粒体红色荧光探针), 也称MitoTracker Red CMXRos, 是一种具有细胞通透性的X-rosamine衍生物(Chloromethyl-X-rosamine, 简称CMXRos), 能够特异性地标记细胞中具有生物活性的线粒体, 检测线粒体膜电位。本产品为高纯度探针, 兼容后续的细胞固定和通透, 但染色后再固定和通透, 荧光强度会有一定程度的下降。
- 本产品是一种氧化型的红色荧光染料, 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。
- Mito-Tracker Red CMXRos分子式为 $C_{32}H_{32}Cl_2N_2O$, 分子量为531.5, CAS number为167095-09-2, Mito-Tracker Red CMXRos呈红色荧光, 最大激发波长为579nm, 最大发射波长为599nm。
- Mito-Tracker Red CMXRos可以用作线粒体特异性的荧光探针。和Rhodamine 123或JC-1相似, Mito-Tracker Red CMXRos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。
- **本产品适用范围广。**本产品可用于各种方法培养出的3D细胞球或类器官, 包括超低吸附细胞培养板、Matrix-Gel™基质胶或Matrigel包被的平板、琼脂糖包被的平板、细胞悬滴培养板等。
- **本产品使用便捷, 整个检测过程仅需约10-30分钟即可完成。**对于常规的3D细胞活细胞染色, 仅需加入本产品避光孵育10分钟即可进行荧光检测。本产品对3D培养的HCT-116细胞的染色效果参考图1。

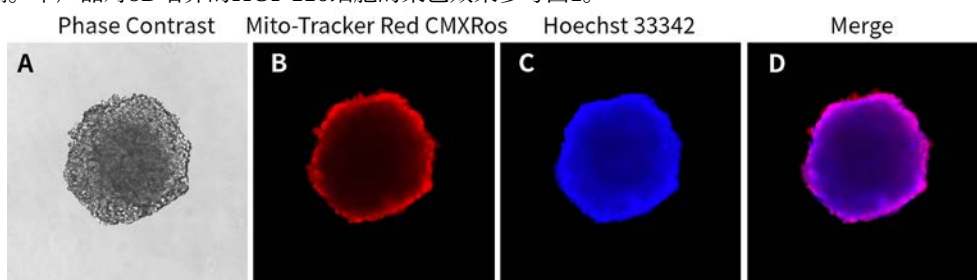


图1. 碧云天Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1000X) (C1439)对于3D培养的HCT-116细胞的染色效果图。5000个HCT-116细胞使用碧云天3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板培养72小时, 然后吸除培养液后直接加入Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1X)染色10分钟(图中两种染料可混合配制后使用)。结果显示, Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos对于3D细胞染色效果清晰、明亮, Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色的线粒体呈现红色荧光(图B), Beyo3D™ Hoechst 33342染色液(C1345)染色的细胞核呈现蓝色荧光(图C), 红色荧光及细胞核蓝色荧光的叠加(Merge)效果见图(图D)。实际检测效果会因细胞株、实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- 由于Mito-Tracker Red CMXRos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, 通过检测线粒体膜电位的变化来检测细胞凋亡。
- 传统的细胞培养大多以二维(Two-dimensional, 2D)的形式展开, 但2D培养的细胞在生长方式、生长形态、分化和功能等方面都与体内生理条件下细胞的真实形态和结构存在明显差异, 可能会因为细胞结构和组织形态的缺失, 使实验结果的可信度降低[1-3]。三维(Three-dimensional, 3D)细胞培养能够更好地模拟体内细胞生存的微环境, 更能代表体内组织, 也能更真实的反映细胞与细胞间、细胞与基质间的相互作用, 细胞对外源性和内源性刺激的应答也更接近于它们在体内的反应, 3D细胞培养从而成为更有价值并更为可信的体外实验模型, 能够获得与体内实验更加一致的实验结果[4-5]。
- 3D肿瘤细胞模型越来越多地被用于了解疾病机制和药物研发。2D培养的肿瘤细胞, 其单侧细胞膜可以均匀地获得营养和氧气, 而

3D培养的肿瘤细胞团的内部细胞获得营养和氧气的机会更少，形成自然的营养和氧气梯度，能更好地模拟体内微环境条件，因此3D培养的肿瘤球状体(Spheroid)或肿瘤类器官(Organoid)等能更好地模拟体内肿瘤，更利于小分子药物筛选或者肿瘤相关分子机制的研究，也更能准确地预测药物治疗的体内反应、疗效或毒性。同时，2D肿瘤细胞模型体外扩增有一定局限性，在传代后容易丧失原肿瘤的遗传异质性，出现优势克隆选择性，从而降低临床相关性。相比于2D细胞模型，3D细胞球或者类器官很多情况下能提供更可信的研究结果，简化并加速药物评价流程。自2009年小肠类器官首次建立至今，3D细胞和类器官研究已经扩展到很多组织系统，并成为生命科学最热门的领域之一。

➤ 按照96孔板每孔需0.1μl Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1000X)，本产品每50μl可以进行500个样品的检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C1439S	Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1000X)	50μl
C1439M	Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1000X)	250μl
—	说明书	1份

保存条件：

-20℃避光保存，一年有效。

注意事项：

- 细胞球在外力的作用下容易变形或分散，PBS洗涤及换液等过程须轻缓，避免破坏或吹散3D细胞球。
- Mito-Tracker Red CMXRos (线粒体红色荧光探针)可以用于活细胞的线粒体荧光染色，不适合用于固定后细胞或者组织的染色；但在用本产品标记线粒体后，后续可以进行固定和通透，并用其它探针进行染色或进行免疫荧光染色，但染色后再固定和通透，荧光强度会有一定的下降。而且不同的细胞，固定和通透的影响会有所区别，建议对固定和通透试剂、条件进行一定的测试。
- 本产品浓度经过碧云天的优化，确保可以满足活细胞染色及各种常规染色的需要。如需使用特定浓度的Mito-Tracker Red CMXRos，请选购碧云天的Mito-Tracker Red CMXRos (线粒体红色荧光探针) (C1049B)。
- 荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽量当天完成检测。
- 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：

本步骤以96孔板，每孔接种100μl细胞为例，如使用其它类型的多孔板，各试剂使用量请按照相应比例进行换算。

1. 3D细胞的准备。

在96孔3D培养板中每孔接种100μl细胞，细胞的接种量根据具体的实验方案，例如培养天数、需要的3D细胞球状体的大小等确定，按照3D细胞培养方案培养细胞，并按照实验设计进行一定的处理。96孔3D培养板推荐使用碧云天的3D细胞培养板包被液(C0365)、3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板，或直接使用BeyoGold™ 超低吸附96孔板(FULA962/FULA961)、BeyoGold™ 超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖，独立包装) (FULA965)等。

注：为达到最佳的使用效果，具体细胞球培养时间、药物等干预时间可以根据细胞种类、具体的实验需求等进行调整。例如，对于HCT-116细胞，通常接种培养48小时形成较为紧实的细胞球后进行干预染色效果较好。

2. 3D细胞Mito-Tracker Red CMXRos染色。

- a. Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1X)的配制:如下表所示,按照96孔板每孔需要100μl Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1X)的量,用PBS稀释配制适量的Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1X)。PBS推荐使用PBS (C0221A)。

Sample number	10 samples	50 samples	100 samples
PBS	1ml	5ml	10ml
Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos Staining Solution (1000X)	1μl	5μl	10μl
Total volume	~1ml	~5ml	~10ml

注1：配制好的Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1X)必须一次使用完毕，不能冻存。

注2：Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液中的Mito-Tracker Red CMXRos的最终浓度可以根据不同细胞系和实验体系通过预实验进行优化。Mito-Tracker Red CMXRos的工作浓度通常为0.5-2X，推荐使用浓度为1X。

- b. 小心去除原有细胞培养液。每孔加入100μl Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1X)，在适宜于细胞培养的温度避光孵育10分钟。

注1：为达到最佳的染色效果，具体染色时间可以根据细胞种类、培养天数、细胞球状大小等进行调整。

注2：任何液体吸除或加入的过程须轻缓，避免破坏或吹散3D细胞球。3D细胞球通常沉浮在培养板或培养皿等培养器的底部，培养板在对着光线时能看到孔内针尖大小的乳白色细胞球，吸除孔内液体时须尽量避开细胞球以免将细胞球吸走。可以根据孔内液体的体积将移液器调至合适的量程，例如需要吸除的液体体积为100μl，将200微升移液器的量程调整到50-70微升，避开细胞球从液体边缘缓慢、分次吸除。孔内加入液体时，沿着孔壁小心、缓慢加入，避免破坏或吹散3D细胞球。

3. 荧光拍摄。

染色结束后，小心去除孔内染色液，沿着孔壁缓慢加入适量的PBS洗涤细胞球1次并用完全培养基换液以终止染色，即可在荧光显微镜下观察。Mito-Tracker Red CMXRos为红色荧光探针，最大激发波长为579nm，最大发射波长为599nm。

注：任何液体吸除或加入的过程须轻缓，避免破坏或吹散3D细胞球。

参考文献：

1. Kapa
2. Riedl A, Schlederer M, Pudelko K, Stadler M, Walter S, et al. J Cell Sci. 2017. 130(1):203-218.
3. Hoarau-Véhot J, Rafii A, Touboul C, Pasquier J. Int J Mol Sci. 2018. 19(1):181.
4. Ravi M, Paramesh V, Kaviya SR, Anuradha E, Solomon FD. J Cell Physiol. 2015. 230(1):16-26.
5. Antoni D, Burckel H, Josset E, Noel G. Int J Mol Sci. 2015. 16(3):5517-27.

Kozłowska M, Przybyłowska W, Zajączkowski

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0365	3D细胞培养板包被液	20/100ml
C0366S	3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板)	5plts
C0049	Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	100/500/2500次
C0061	CellTiter-Lumi™发光法3D细胞活力检测试剂盒	100/500/2500次
C0371	Matrix-Gel™基质胶(标准型, 含酚红)	1/5/10/50ml
C0372	Matrix-Gel™基质胶(标准型, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0376	Matrix-Gel™基质胶(低生长因子, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0383	Matrix-Gel™基质胶(高浓度, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0387	Matrix-Gel™基质胶(高浓度低生长因子, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0392	Matrix-Gel™基质胶(干细胞用, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0396	Matrix-Gel™基质胶(类器官用, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C1341	Beyo3D™ DAPI染色液	10/50/200ml
C1345	Beyo3D™ Hoechst 33342染色液	10/50/200ml
C1352	Beyo3D™ PI染色液	10/50/200ml
C1356	Beyo3D™ YO-PRO-1染色液	10/50/200ml
C1363	Beyo3D™ YO-PRO-1/PI细胞凋亡与坏死检测试剂盒	100/500次
C1367	Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	0.1/0.5/2ml
C1371	Beyo3D™ Calcein/PI细胞活性与细胞毒性检测试剂盒	100/500次
C1375	Beyo3D™ Calcein/PI/Hoechst细胞活力检测试剂盒	100/500次
C1379	Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测试剂盒	100/500次
C1383	Beyo3D™ Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒	20/50/100次
C1387	Beyo3D™ Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒	20/50/100次
C1391	Beyo3D™ Annexin V-EGFP细胞凋亡检测试剂盒	20/50次
C1395	Beyo3D™ Annexin V- mCherry细胞凋亡检测试剂盒	20/50/100次
C1399	Beyo3D™ Annexin V-mCherry/SYTOX Green细胞凋亡检测试剂盒	20/50次
C1403	Beyo3D™活细胞Caspase-3活性与线粒体膜电位检测试剂盒	20/50次
C1407	Beyo3D™ Caspase-3活性与Annexin V细胞凋亡检测试剂盒	20/50次
C1411	Beyo3D™线粒体膜电位与细胞凋亡检测试剂盒	20/50次
C1415	Beyo3D™细胞膜红色荧光染色试剂盒(DiI)	100/500次
C1419	Beyo3D™细胞膜绿色荧光染色试剂盒(DiO)	100/500次
C1423	Beyo3D™细胞膜远红荧光染色试剂盒(DiD)	100/500次
C1427S	Beyo3D™ Mito-Tracker Deep Red FM染色液(1000X)	20μl
C1431	Beyo3D™ Mito-Tracker Deep Red 633染色液(1000X)	50/250μl
C1435	Beyo3D™ Mito-Tracker Green染色液(1000X)	50/250μl
C1439	Beyo3D™ Mito-Tracker Red CMXRos染色液(1000X)	50/250μl
C1443	Beyo3D™ Lyso-Tracker Red染色液(1000X)	50/250μl
C1447	Beyo3D™ Lyso-Tracker Green染色液(1000X)	50/250μl
C1451S	Beyo3D™ ER-Tracker Red染色试剂盒	50次

C1455S	Beyo3D™ ER-Tracker Green染色试剂盒	50次
P0121	BeyoCUBIC™ 3D细胞透明化试剂盒	5/25ml
FULA061	BeyoGold™超低吸附6孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA122	BeyoGold™超低吸附12孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA243	BeyoGold™超低吸附24孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA485	BeyoGold™超低吸附48孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA961	BeyoGold™超低吸附96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA962	BeyoGold™超低吸附96孔板(圆底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA965	BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA981	BeyoGold™超低吸附384孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA985	BeyoGold™超低吸附黑色透明底384孔板 (平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA035-10pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋
FULA035-40pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA060-10pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋
FULA060-40pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA100-10pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋
FULA100-40pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱

Version 2025.03.25