

## 微管绿色荧光染色试剂盒(活细胞染色用)

产品编号	产品名称	包装
C2213S	微管绿色荧光染色试剂盒(活细胞染色用)	20-200次

### 产品简介:

- 碧云天生产的微管绿色荧光染色试剂盒(活性染色用), Tubulin-Tracker Green Staining Kit for Living Cells, 是一种使用了便捷灵敏的荧光探针Oregon Green 488 Taxol bis-acetate的活细胞微管绿色荧光染色试剂盒。本试剂盒除了荧光探针还提供了促溶剂、染色增强剂和稀释液, 使荧光染色检测非常便捷。
- Tubulin-Tracker Green探针是一种不带电荷的无荧光化合物, 可轻松穿透活细胞的细胞膜。一旦进入细胞内, 其亲脂性基团被细胞内的酯酶切除, 就会变成带电荷的荧光形式, 可以产生绿色荧光。
- Tubulin-Tracker Green在活细胞内扩散快、灵敏度高、能够对细胞微管均匀染色, 可使用荧光显微镜进行观察和检测。
- Taxol, 即paclitaxel, 中文名紫杉醇, 是一类能够结合于微管的细胞骨架药物, 具有一定的细胞毒性, 可以抑制细胞的有丝分裂, 该作用与其结合细胞内微管蛋白有关。Taxol可与聚合微管蛋白(polymerized tubulin)结合, 结合后可促进微管聚合并稳定已聚合的微管, 并将细胞周期阻滞于G2期和M期。所以需注意使用Tubulin-Tracker Green探针会抑制有丝分裂的进行, 并可能影响依赖于聚合微管蛋白的其它功能。
- 本试剂盒中的Tubulin-Tracker Green是Oregon Green® 488 Taxol (CAS号301844-13-3)的一种双乙酸酯修饰形式, 更易进入细胞, 荧光标记更均一, 特异性也更好。
- Tubulin-Tracker Green分子式为 $C_{75}H_{69}F_2N_2O_{23}$ , 分子量约为1404, 最大激发光波长为496nm, 最大发射光波长为526nm。Tubulin-Tracker Green的化学结构式和光谱图参考图1。

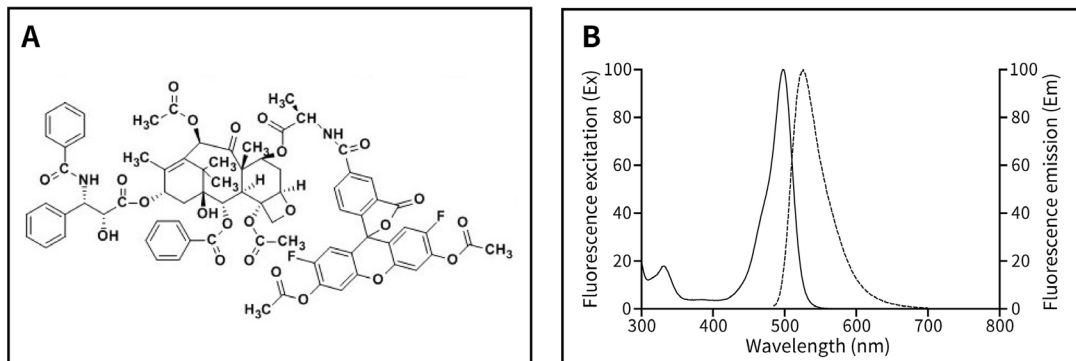


图1. Tubulin-Tracker Green的化学结构式(图A)及激发、发射光谱图(图B)。

- Tubulin-Tracker Green只适用于对活细胞进行微管的荧光标记, 不能对死细胞进行标记。使用本产品标记活细胞内微管的效果参考图2。

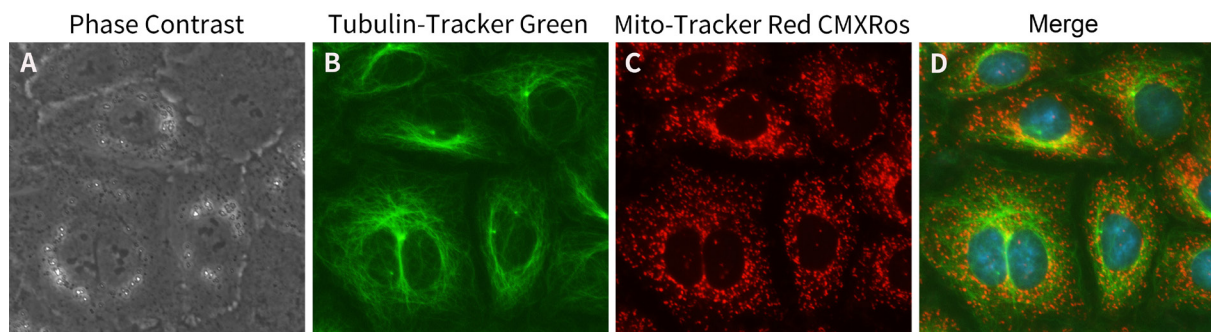


图2. Tubulin-Tracker Green (微管绿色荧光探针)对于NRK-52E细胞(大鼠肾小管上皮细胞)的染色效果。Tubulin-Tracker Green染色的NRK-52E细胞其微管呈现绿色荧光(图B), Mito-Tracker Red CMXRos (C1049)染色的NRK-52E细胞其线粒体呈现红色荧光(图C), 绿色荧光、红色荧光及细胞核蓝色荧光的叠加(merge)效果见图D。其中细胞核使用Hoechst 33342 (C1027)染色。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 本产品中提供的促溶剂可以促进Tubulin-Tracker Green探针的溶解并改善染色效果; 提供的染色增强剂(100X)是定位于活细胞膜上的阴离子转运蛋白的抑制剂, 可降低去酯化的Tubulin-Tracker Green探针通过主动运输分泌到胞外; 提供的

Tubulin-Tracker Green稀释液使活细胞的微管荧光染色和洗涤更加便捷。

- 对于96孔板或6孔板，按照1:1000配制Tubulin-Tracker Green染色工作液，且每孔使用100μl或1ml Tubulin-Tracker Green染色工作液，本试剂盒分别可以进行200次或20次检测。

### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C2213S-1	Tubulin-Tracker Green (1000X)	20μl
C2213S-2	促溶剂	20μl
C2213S-3	染色增强剂(100X)	800μl
C2213S-4	Tubulin-Tracker Green稀释液	80ml
—	说明书	1份

### 保存条件：

-20°C保存，至少半年有效，-80°C保存，至少一年有效。促溶剂和Tubulin-Tracker Green稀释液可以4°C保存。Tubulin-Tracker Green (1000X)需避光保存。

### 注意事项：

- 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。
- 细胞在含染色增强剂(1X)的溶液中孵育的时间不能超过2小时。
- 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：

#### 1. Tubulin-Tracker Green (500X)中间贮存液的准备：

融解并取出适当体积的Tubulin-Tracker Green (1000X)，加入等体积的促溶剂，即为Tubulin-Tracker Green (500X)中间贮存液。Tubulin-Tracker Green (500X)中间贮存液密封避光保存于-20°C两周内有效。

#### 2. Tubulin-Tracker Green染色工作液的配制：对于6、12、24、96孔板，每孔所需的Tubulin-Tracker Green染色工作液的用量分别为1~2ml、0.5~1ml、200~500μl和100μl。根据样品数量，计算所需Tubulin-Tracker Green染色工作液的体积。以12孔板每孔1ml染色工作液的体系为例，参考下表配制Tubulin-Tracker Green染色工作液。

样品数	1	5	10	20
Tubulin-Tracker Green (500X)	2μl	10μl	20μl	40μl
染色增强剂(100X)	10μl	50μl	100μl	200μl
Tubulin-Tracker Green稀释液	988μl	4.94ml	9.88ml	19.76ml
染色工作液总体积	1ml	5ml	10ml	20ml

注1: Tubulin-Tracker Green染色工作液使用前需37°C预温育。

注2: Tubulin-Tracker Green染色工作液中的Tubulin-Tracker Green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。Tubulin-Tracker Green的推荐工作浓度为1X，可以在0.5X-2X范围内摸索最佳工作浓度。为降低背景，在染色效果可以接受的范围内，建议尽量使用较低浓度的Tubulin-Tracker Green。

注3: 本试剂盒中提供的Tubulin-Tracker Green稀释液在一段时间内可以维持细胞的正常状态，并给细胞提供一定的营养，效果通常比PBS或HBSS更好，也可以用其它合适的溶液，如无血清培养液代替。

#### 3. 活细胞微管的荧光标记：

- 去除细胞培养液，用适量的溶液如HBSS (C0218/C0219)或PBS (C0221A)洗涤生长在孔板、培养皿或爬片上的细胞。注：对于悬浮细胞的染色可以参考贴壁细胞的染色方法进行。
- 去除洗涤液，加入步骤2配制好的并37°C预温育的Tubulin-Tracker Green染色工作液，与细胞37°C共孵育30-120分钟，不同的细胞最佳孵育时间有所不同。以30分钟作为初始孵育时间，根据所用细胞对孵育时间进行适当优化以得到最佳效果。
- 去除Tubulin-Tracker Green染色工作液，用含染色增强剂 (1X)的Tubulin-Tracker Green稀释液洗涤细胞2-3次。
- 用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜进行观察(Tubulin-Tracker Green为绿色荧光，Ex/Em = 496/526nm，设置与FITC或GFP相同)，此时可观察到微管呈清晰的绿色荧光染色。注：染色完毕后应立即观察，放置时间过长会导致荧光强度减弱。

### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C1033	Actin-Tracker Green (微丝绿色荧光探针)	0.2ml
C1036	DiI (细胞膜红色荧光探针)	10mg
C1038	DiO (细胞膜绿色荧光探针)	10mg
C1039-10mg	DiD (细胞膜远红外荧光探针)	10mg
C1041	ER-Tracker Red (内质网红色荧光探针)	20μl
C1042S	ER-Tracker Green (内质网绿色荧光探针)	20μl

C1043	Golgi-Tracker Red (高尔基体红色荧光探针)	1mg
C1045S	Golgi-Tracker Green (高尔基体绿色荧光探针)	1mg
C1046	Lyso-Tracker Red (溶酶体红色荧光探针)	50μl
C1047S	Lyso-Tracker Green (溶酶体绿色荧光探针)	50μl
C1048	Mito-Tracker Green(线粒体绿色荧光探针)	50μg
C1049	Mito-Tracker Red CMXRos (线粒体红色荧光探针)	50μg
C1050	Tubulin-Tracker Red (抗体法微管红色荧光探针)	40μl
C1051S	Tubulin-Tracker Green (抗体法微管绿色荧光探针)	40μl
C1991S	细胞膜红色荧光染色试剂盒(DiI)	100-1000 次
C1993S	细胞膜绿色荧光染色试剂盒(DiO)	100-1000 次
C1995S	细胞膜远红外荧光染色试剂盒(DiD)	100-1000 次
C2201S	Actin-Tracker Green-488 (微丝绿色荧光探针)	0.2ml
C2203S	Actin-Tracker Red-555 (微丝红色荧光探针)	0.2ml
C2205S	Actin-Tracker Red-594 (微丝红色荧光探针)	0.2ml
C2207S	Actin-Tracker Red-Rhodamine (微丝红色荧光探针)	0.2ml
C2213S	微管远绿色光染色试剂盒(活细胞染色用)	20-200 次
C2215S	微管远红外荧光染色试剂盒(活细胞染色用)	20-200 次

Version 2020.05.18