

活细胞示踪三色组合试剂盒 (绿色/红色/深红色) Cell-Tracker Three-color Trial Kit (Green/Red/Deep red)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5143	Cell-Tracker Three-color Trial Kit (Green/Red/Deep red) 活细胞示踪三色组合试剂盒 (绿色/红色/深红色)	1kit

【温馨提示】: 见我司整理的 [Cell-Tracker 细胞示踪/细胞追踪荧光探针专题](#)。

产品简介:

Cell-Tracker 荧光探针是用来监测细胞运动、定位、增殖、迁移、趋化和侵袭的优秀工具。

Cell-Tracker 荧光探针能自由穿透细胞膜进入细胞，在胞内转化生成不具细胞膜渗透性的反应产物。Cell-Tracker 荧光探针 (除了 Cell-Tracker Deep Red) 含有一氯甲基或溴甲基基团，与巯基反应，利用谷胱甘肽 S 转移酶介导的催化作用。大多数细胞中谷胱甘肽含量很高 (高达 10mM)，谷胱甘肽转移酶普遍存在。

Cell-Tracker Deep Red 含一琥珀酰亚胺酯反应基团，与蛋白上的胺基反应。一旦转化为不可逆产物，这些产物几次传代都能良好的保留在活细胞中。在细胞群内，染料只会转移到子代细胞，不会转移到邻近细胞。

Cell-Tracker 探针特地设计使其至少 72h (典型有 3~6 代) 能展示荧光，此染料表现出理想的示踪特征：稳定、工作浓度下无毒性、良好保留在细胞，且在生理 pH 下呈明亮荧光。

该试剂盒提供三种不同激发和发射波长的 Cell-Tracker 荧光探针，每种探针都以最小规格供货，方便初次进行示踪实验的客户，以最经济的方式优化出所需的最佳探针和实验条件。也特别适合同时做 2-3 种细胞示踪且用量少的客户。(见附表 1. Cell-Tracker 荧光探针的光谱特征)。

保存条件:

-20°C避光干燥保存，至少 2 年有效。

产品组成:

组分	名称	外观	规格	储存条件
NBS5138-50ug	Cell-Tracker Green CMFDA	固体	50μg	-20°C避光 干燥保存
NBS5140-50ug	Cell-Tracker Red CMTPX	固体	50μg	-20°C避光 干燥保存
NBS5141-15ug	Cell-Tracker Deep Red	固体	15μg	-20°C避光 干燥保存

产品使用:

1. 细胞准备

在合适的培养基内培养细胞。贴壁细胞可以在含盖玻片的培养皿内爬片生长，装入足量的生长培养基。

2. 操作步骤

以下描述的是将染料加到培养细胞以及在荧光显微镜下成像的步骤。各种因素，比如将染料加载到细胞或组织，可能都需根据特定的细胞类型对某些条件做出修改。

探针的最佳染色浓度需根据用途来调整。建议刚开展实验需要测定至少 1 个 10 倍范围内的浓度。一般来说，长期染色 (≥ 3 天) 或使用快速分裂的细胞需 5-25μM 的染料。对于短期实验 (比如活力测定)，使用低浓度染料 (0.5-5μM)。由于 Cell-Tracker Deep Red 染料的荧光信号高，最佳使用浓度在 250nM-1μM。为了维持正常的细胞形态和降低潜在的伪影，尽可能使用低浓度的染料。

2.1 制备 Cell-Tracker 染色工作液

① 开瓶前将产品从冰箱取出，放到室温使其回温至少 20min。

② 用高质量的无水 DMSO 溶解粉末使其浓度为 1-10mM。

a) 对于 Cell-Tracker Green CMFDA (MW: 464.86 g/mol)，每管 50μg 固体，加入 10.7μl DMSO 充分溶解，即得到 10mM 母液。若单次用不完，建议根据单次用量将储存液分装， $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

b) 对于 Cell-Tracker Red CMTPX (MW: 686.25 g/mol)，每管 50μg 固体，加入 7.2μl DMSO 充分溶解，即得到 10mM 母液。若单次用不完，建议根据单次用量将储存液分装， $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

c) 对于 Cell-Tracker Deep Red (MW: 698.3 g/mol), 每管 15 μ g 固体, 加入 20 μ l DMSO 充分溶解, 即得到 1mM 母液。若单次用不完, 建议根据单次用量将储存液分装, $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

③ 用无血清培养基稀释母液到 0.5-25 μ M 的工作浓度 (最佳浓度需优化)。预热染色工作液到 37 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2 悬浮细胞染色步骤

① 离心收集细胞, 吸掉上清液。用预热的 Cell-Tracker 染色工作液轻轻的重悬细胞。

② 在适合特定细胞类型的生长条件下避光孵育 15-45min。

③ 离心细胞, 吸掉 Cell-Tracker 染色工作液。

④ 加入选择的培养基, 将标记好的细胞分配到载玻片或到选择的培养器皿内。

⑤ 根据附表 1 选择合适激发和发射波长的滤片来进行成像检测。

2.3 贴壁细胞染色步骤

① 吸走培养基。

② 轻轻加入预热的 Cell-Tracker 染色工作液。

③ 在适合特定细胞类型的生长条件下避光孵育 15-45min。

④ 吸掉 Cell-Tracker 染色工作液。

⑤ 加入选择的培养基。

⑥ 根据表 1 选择合适激发和发射波长的滤片来进行成像检测。

3. 荧光显微镜观察

Cell-Tracker 荧光探针可用带标准光学和图像增强的各种落射荧光光学显微镜检测。根据染料选择合适的滤片。见附表 1 Cell-Tracker 荧光探针的光谱特征。

表 1. Cell-Tracker 荧光探针的光谱特征

产品名称	分子量	常用检测通道	Ex/Em (nm) ^[1]
Cell-Tracker Green CMFDA	464.9	FITC	492/517 ^[2]
Cell-Tracker Orange CMTMR	554.0	TRITC	541/565
Cell-Tracker Red CMTPIX	686.3	Rhodamine	577/602
Cell-Tracker Deep Red	698.3	Cy5	630/650
Cell-Tracker Blue CMAC	209.6	DAPI	353/466

[1] 最大吸收和发射荧光, 在水溶性缓冲液或甲醇内确定。在细胞环境内荧光值可能有些许变

化。

[2] CMFDA 本身无色和无荧光，直至胞内酯酶切割掉酯化基团。酯化基团的水解得到产物的荧光特征如表所述。

注意事项：

1. 荧光染料都存在淬灭的问题，保存和操作过程中注意避光。
2. 避免使用含氨基和巯基的缓冲液。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS5138-100ug</u>	<u>Cell-Tracker Green CMFDA 活细胞示踪探针 (绿色)</u>	2×50μg
<u>NBS5139-100ug</u>	<u>Cell-Tracker Orange CMTMR 活细胞示踪探针 (橙色)</u>	2×50μg
<u>NBS5140-100ug</u>	<u>Cell-Tracker Red CMTMX 活细胞示踪探针 (红色)</u>	2×50μg
<u>NBS5141-30ug</u>	<u>Cell-Tracker Deep Red 活细胞示踪探针 (深红色)</u>	2×15μg
<u>NBS5142-5mg</u>	<u>Cell-Tracker Blue CMAC 活细胞示踪探针 (蓝色)</u>	5mg
<u>NBS5143</u>	<u>Cell-Tracker Three-color Trial Kit (Green/Red/Deep red)</u> <u>活细胞示踪三色组合试剂盒 (绿色/红色/深红色)</u>	1kit