

TraKine™ 细胞膜染色试剂盒（橘红色荧光）

Cat #: KTC4002

Size: 100 T/500 T/2000 T

	TraKine™ 细胞膜染色试剂盒（橘红色荧光）		
REF	货号：KTC4001	LOT	批号：见产品标签
	荧光激发/发射：549 nm/569 nm		
	保质期：-20℃保存 6 个月		

原理

细胞膜（质膜）是一层薄薄的半透膜，由具有嵌入蛋白的脂质双层组成，该蛋白将所有细胞的内部与环境隔开。细胞膜的基本功能是保护细胞免受周围环境的侵害。细胞膜控制物质进出细胞和细胞器的运动。这样，它对离子和有机分子是选择性渗透的。细胞膜参与各种细胞过程，例如细胞粘附，离子传导性和细胞信号传导，并充当几种细胞外结构（包括细胞壁，糖萼）和细胞内细胞骨架的附着表面。TraKine™ 细胞膜染色试剂盒（橘红色荧光）是一套荧光成像工具，可根据细胞类型和实验条件对活细胞和固定的悬浮或附着的细胞中的质膜进行快速染色。该试剂盒使用专有的亲脂性碳菁染料（Ex/Em=549/569 nm），该染料在水中微弱地发荧光，但当掺入膜中时却具有很高的荧光性和光稳定性。

包装清单

试剂盒组分	规格			储存条件
	100 T	500 T	2000 T	
CPM™ Orange (1000×)	50 µL	250 µL	1 mL	-20℃避光保存
Assay Buffer (10×)	5 mL	25 mL	100 mL	4℃

自备耗材

- 离心机
- 移液器及吸头
- 去离子水
- 荧光显微镜或流式细胞仪
- 24 孔板（细胞培养用）
- 磷酸盐缓冲液(PBS)

试剂准备

CPM™ Green (1000×)：平衡到室温，将未使用的 CPM™ Orange (1000×) 储备液分装保存于 -20℃。避光放置避免反复冻融。

1×Assay Buffer：用去离子水把 10×Assay Buffer 稀释成 1×Assay Buffer，加热至 37℃ 使用。

Staining Solution : 将 1 μ L CPM™ Orange (1000 $\times$)用 1 mL 1 $\times$ Assay Buffer 混合均匀。

实验步骤

注意：CPM™ Orange 的最佳浓度和孵育时间取决于具体应用。染色条件可能需要根据特定的细胞类型进行调整。

A. 流式细胞仪分析

1. 用预期的方法处理细胞。

注意：建议将未染色的对照细胞（即不用 CPM™ Orange 染色的）悬浮在测定缓冲液中，用来设置流式细胞仪，然后检测处理和未处理的样品。

- 2. 对于非贴壁细胞，通过离心（4℃，300 g，5 min）收集 1-5 $\times$ 10⁵ 细胞。用冰冷的 PBS 洗涤两次，并丢弃 PBS。对于贴壁细胞，首先使用胰蛋白酶（无 EDTA）消化细胞，然后离心。
- 3. 将细胞沉淀重悬于 500 μ L Staining Solution 中。
- 4. 在黑暗中于 37℃孵育细胞 5-20 min。
- 5. 以 500 g 离心细胞并丢弃上清液。
- 6. 用 PBS 洗涤细胞沉淀并重复 step 5。
- 7. 将细胞沉淀重悬于 0.5 mL 预热的 PBS 中，并通过流式细胞仪分析细胞。

B. 荧光显微镜检测

- 1. 悬浮细胞：按照步骤 A.1 到步骤 A.4 进行流式细胞术，将步骤 A.4 的细胞悬浮液放在载玻片上。用玻璃盖玻片盖住细胞。尽快使用适当的滤光片通过荧光显微镜分析细胞。
- 2. 贴壁细胞：建议的方案如下。
 - 2.1. 直接在 24 孔培养皿的盖玻片上培养细胞。处理前，在 37℃的 CO₂ 培养箱中孵育至少 24 h。
 - 2.2. 用 PBS 洗涤细胞两次。
 - 2.3. 向细胞中加入 0.5 mL Staining Solution，并在黑暗中于 37℃孵育 5-10 min。
 - 2.4. 用预热的 PBS 洗涤细胞两次
 - 2.5. 染色后固定细胞（可选）：用 4%多聚甲醛固定细胞 15-30 min。其他固定剂，尤其是戊二醛，往往会产生高水平的背景荧光。
 - 2.6. 将盖玻片翻转贴到一个干净的载玻片上，并用荧光显微镜上适当的滤光片尽快拍照（Ex/Em=549/569 nm）。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTC4001	TraKine™ 细胞膜染色试剂盒（绿色荧光）
KTC4003	TraKine™ 线粒体染色试剂盒（绿色荧光）
KTC4004	TraKine™ 线粒体染色试剂盒（橘红色荧光）
KTC4005	TraKine™ 线粒体与细胞核双染色试剂盒
KTC4008	TraKine™ F-actin 染色试剂盒（绿色荧光）
KTC4009	TraKine™ F-actin 染色试剂盒（橙色荧光）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

