

## Mito Tracker 实验报告

### 一、实验器材及试剂

#### 1、实验器材

名称	厂家	型号
立式冷藏柜	海尔	SC-332
台式高速冷冻离心机	湖南恒诺仪器设备有限公司	2-16R
超净工作台	苏净安泰	SW-CJ-1FD
CO <sub>2</sub> 细胞培养箱	Thermo	4131
电热恒温水浴锅	恩谊	HH-48
涡旋混匀仪	JOANLAB	VM-500S
倒置荧光显微镜	徕卡	DMi8
实验室超纯水机	砾鼎	MT-VF-20
全自动雪花制冰机	常熟市雪科电器	IMS-40

#### 2、主要实验试剂及耗材

耗材	厂家	货号
1.5 ml 离心管	安徽科兔生物科技有限公司	KTL-15-W
2 ml 研磨管	安徽科兔生物科技有限公司	KTL-20-W
10 $\mu$ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-10
100 $\mu$ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-100
200 $\mu$ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-200
1000 $\mu$ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-1000
5000 $\mu$ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-5000
T25	安徽科兔生物科技有限公司	KTP-25-T
胰酶	安徽科兔生物科技有限公司	RG-CE-18
PBS 缓冲液	安徽科兔生物科技有限公司	RG-RT-01
DMEM 培养基	安徽科兔生物科技有限公司	RG-CE-2



血清	安徽科兔生物科技有限公司	CG-SR-02
6 孔板	安徽科兔生物科技有限公司	KTB-6
Hoechst 33342	碧云天	C1022
共聚焦培养皿	Biosharp/白鲨	BS-15-GJM-B
Mito Tracker Green 染色	碧云天	C1048

## 二、实验步骤

- 1、细胞密度达到 80-90%，收集细胞，并用 1 mL DMEM 培养基重悬成细胞悬液，并用移液器轻轻吹打，确保形成单一细胞悬液，无细胞团块。向共聚焦小皿的中加入适量的细胞悬液，使细胞密度在 60%左右。轻轻前后左右十字晃动孔板，使细胞均匀分布在孔底。将细胞放入 37°C、5% CO<sub>2</sub>的恒温培养箱中培养至细胞贴壁。
- 2、按照实验设计，细胞贴壁后更换新鲜培养基。Mito-Tracker Green 储存液的配制：用无水 DMSO(anhydrous dimethylsulfoxide)配制 Mito-Tracker Green 至终浓度为 1mM。Mito-Tracker Green 工作液的配制：取少量 1mM Mito-Tracker Green 储存液按照 1:5000 的比例加入到细胞培养液中，使最终浓度为 20nM，Mito-Tracker Green 工作液使用前需 37°C 预温育。培养箱中取出细胞，去除细胞培养液，共聚焦小皿加入 1ml 配制好的并 37°C 预温育的 Mito-Tracker Green 染色工作液，与细胞 37°C 共孵育 40 分钟。
- 3、加入适当量 Hoechst 33342 工作液，终浓度为 1X，必须充分覆盖住待染色的样品，共聚焦小皿需加入 1mL 工作液，培养箱培养 10-15 min。
- 4、37°C 孵育结束后，吸除上清，用 PBS 涤 3 次加入 1ml PBS，荧光显微镜下观察线粒体。

## 三、结果判读：

MitoTracker 染色显示，对照组细胞内线粒体荧光信号较强，线粒体呈连续网状或丝状分布，提示线粒体结构和功能状态良好。

## 四、注意事项：

- 1、细胞状态要好
- 2、染色时间过短，线粒体信号不足；时间过长，背景升高，细胞状态可能受影响



- 3、使用无血清或低血清培养基稀释
- 4、染色结束后一般用预温培养基、PBS 或 HBSS 轻轻洗涤 2-3 次。