内质网绿色荧光标记试剂盒(ER-Tracker Green)

产品编号：MA1704　　规格：20-200T / 100-1000T / 500-5000T

产品内容

产品组成	MA1704-1 20-200T	MA1704-2 100-1000T	MA1704-3 500-5000T
ER-Tracker Green (1mM)	20μL	100μL	500μL
ER-Tracker Green 稀释液	60mL	250mL	500mL×2
说明书	1 份	1 份	1 份

产品简介

内质网绿色荧光标记试剂盒(ER-Tracker Green)，即 Endoplasmic Reticulum Green Fluorescent Labeling Kit，是一种内质网特异性绿色荧光染色试剂盒。试剂盒中的 ER-Tracker Green（BODIPY FL Glibenclamide）由绿色荧光染料 BODIPY FL 与药物格列本脲（Glibenclamide）偶联而成，对内质网高选择性结合，并且在低浓度下对细胞无毒性，因此用于活细胞内质网特异性荧光染色。

格列本脲是一种常用的 2 型糖尿病治疗药物，ER-Tracker Green 探针的格列本脲部分能高度特异性地结合 ATP 敏感性钾通道的磺脲类受体，而这种受体大量富集在内质网膜上，因此，当这个探针进入活细胞后，就会通过格列本脲的靶向作用，将 BODIPY FL 的绿色荧光信号“指引”到内质网上，实现对内质网的特异性标记。

ER-Tracker Green 分子式为 $C_{37}H_{42}BClF_2N_6O_6S$，分子量为 783.1。ER-Tracker Green 呈绿色荧光，检测时最大激发光波长为 505nm，最大发射光波长为 512nm。

本试剂盒适用于荧光显微镜、共聚焦显微镜等荧光检测系统。可用于活细胞内质网的标记，能清晰地观察到细胞内质网的分布，但不适合用于固定细胞的标记。

按照 1:1000 的比例稀释，每 10μL 可以配制 10mL ER-Tracker Green 工作液；按照 1:3000 的比例稀释，每 10μL 可以配制 30mL ER-Tracker Green 工作液。

保存条件

-20℃保存，自生产之日起 6 个月有效。ER-Tracker Green (1mM)需避光保存。ER-Tracker Green 稀释液短期内可 2-8℃保存。

使用方法

（一）染色工作液的配制（以 1000×稀释为例）

由于不同细胞种类、细胞密度的染色条件不同，建议自行摸索 ER-Tracker Green (1mM)的最适浓度。推荐稀释比例调整范围为 1:1000-1:3000。

下述按照 1:1000 稀释倍数/1mL 举例：

取出 ER-Tracker Green (1mM)和 ER-Tracker Green 稀释液，使其完全融化，平衡至室温。参考下表配制适量的染色液，涡旋振荡混匀制成染色工作液。

Reagent	1mL
ER-Tracker Green (1mM)	1μL
ER-Tracker Green 稀释液	999μL

配制好的染色工作液必须一次使用完毕，不建议冻存或 2-8℃保存后继续使用。染色液中 ER-Tracker Green (1mM)的最终浓度可以根据染色效果在 0.5μM~3μM（0.5×~3×）之间适当调整。

（二）活细胞内质网染色

1. 接种培养：将细胞接种于共聚焦专用玻璃皿或者细胞爬片上，按实验设计对细胞进行一定处理。

2. 洗涤：吸除培养液，用 D-Hank's 或 D-PBS（含钙镁）洗涤细胞 2 次。

3. 染色：吸除孔板内原有 D-Hank's 或 D-PBS（含钙镁），加入适当体积的染色工作液。通常 4 宫格共聚焦专用玻璃皿每孔加入 500μL，35mm 共聚焦专用玻璃皿每孔加入 1mL，6 孔板每孔加入 1mL。**37℃避光孵育 15-30min。**

4. 检测：孵育结束后，用 D-Hank's 或 D-PBS（含钙镁）洗两遍。随后，用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜进行观察（Ex/Em=505nm/512nm），此时可观察到内质网呈明亮的强荧光染色。

5. 固定（可选）：如果经 ER-Tracker Green 染色后的细胞需要进行固定，可以使用 4%多聚甲醛 37℃固定 2min。固定后用适当的洗涤液洗涤 2-3 次，每次 5min，随后可以进行复染或滴加适当的抗荧光衰减封片剂，最后封片观察。

【注 1】：如需复染细胞核，可将 Hoechst 33342 等核酸染料与探针工作液按说明书比例混合，共同孵育。

【注 2】：请勿在染色前固定细胞，染色前固定细胞会破坏内质网膜结构，使探针的靶向结合能力下降，染色效果变差，可在染色后再固定细胞。

【注 3】：ER-Tracker Green 染色的细胞不能用 Triton X-100 通透，Triton X-100 通透处理会导致 ER-Tracker Green 的荧光染色消失。

【注 4】：使用荧光显微镜拍照时，为了减少荧光淬灭，应尽可能降低荧光显微镜的激发光强度，缩短拍照时间。

注意事项

1. 第一次使用请将本品分装并于-20℃冻存，避免反复冻融。建议根据单次用量分装密封保存。

2. 对于微量的液体，每次使用前先离心数秒钟，使液体充分沉降到管底，待液体全部融化后，混合均匀再使用。

3. 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光。

4. 格列本脲的药理学活性可能会影响内质网的一些功能；在某些特殊细胞类型中，磺脲类受体的表达可能存在差异，这有可能导致非内质网的标记出现。

5. 使用探针时避免接触洗涤剂、去污剂等表面活性剂（如在玻片上残留的）和含甲醇/丙酮类极性溶剂。

6. ER-Tracker Green 可以用于活细胞内质网的荧光标记，但不适合用于固定细胞内质网的荧光标记，如果经 ER-Tracker Green 染色后的细胞需要进行固定操作，使用 4%多聚甲醛在 37℃固定 2min。

7. 本产品仅用于专业科研，禁止用于临床诊疗、食品药品相关领域，禁止存放于普通住宅内。

8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

大连美仑生物技术有限公司
官网:https://www.meilunbio.com/
电话/邮箱:0411-62910999 sales@meilune.com
本产品仅供科研使用