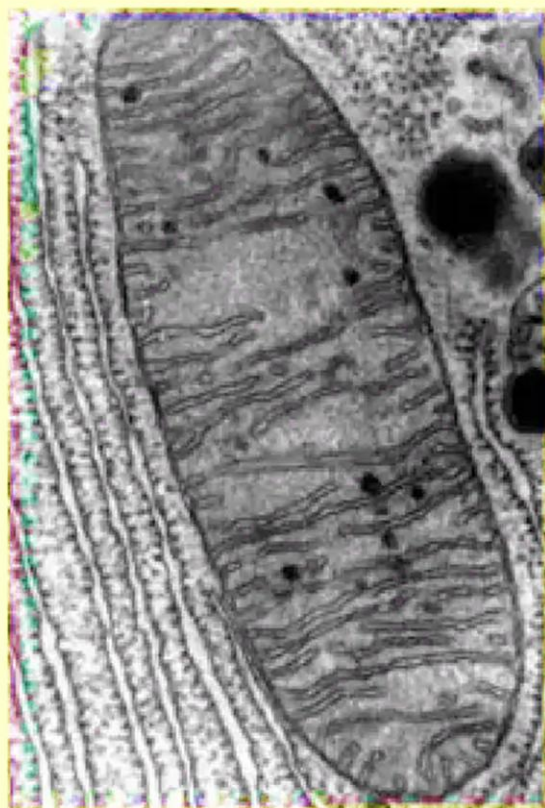
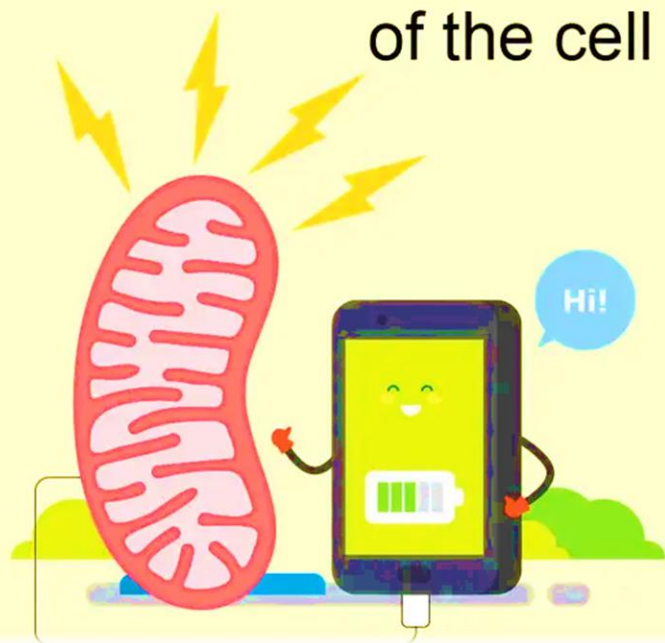


# 粒線體專刊

粒線體是分隔且具雙層膜的胞器，負責細胞中大部分能量的產生。粒線體含有自己的 DNA 和核糖體。它們的主要功能是透過氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation) 將葡萄糖中的能量轉化為 ATP。粒線體也透過細胞自噬 (autophagy)、細胞凋亡 (apoptosis) 及缺氧 (hypoxia) 等過程在細胞壓力反應中發揮重要角色。粒線體功能障礙與許多人類疾病有關，包括癌症、神經退化性疾病和代謝症候群，因此這幾年來，粒線體的研究成為熱門研究主題之一。

## Mitochondria the powerhouses of the cell



瑞柏生物科技股份有限公司

RAINBOW BIOTECHNOLOGY CO.,LTD.

0800-086-555 rainbow@rainbowbiotech.com.tw



瑞柏

官方帳號上線

ID: @rainbowbio

LINE

北區 02-2811-8200 桃竹苗 03-666-0116 中區 04-2315-2922 南區 07-550-0680

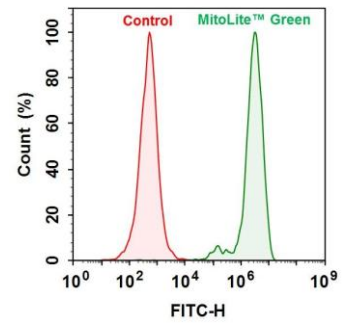
## 萃取及純化粒線體

### ■ 粒線體分離套組

#### ReadiPrep™ Mitochondrial/Cytoplasmic Fractionation Kit

#60005 50 Tests

- 適用於 (哺乳動物) 細胞或組織
- 可同時萃取粒線體及細胞質
- 分離出的粒線體可用染料/探針標記, 如 MitoLite
- 分離出的粒線體具生物活性: 可應用於下游實驗, 如粒線體呼吸、膜電位、細胞凋亡等; 粒線體DNA、RNA 以及蛋白質分析



使用 ReadiPrep™ Mitochondrial / Cytoplasmic Fractionation Kit 分離出 HeLa 細胞中的粒線體, 定量100 µg 後, 加入 MitoLite™ Green (#22675) 染料, 再使用流式細胞儀進行檢測

### ■ 密度梯度離心液 (Density gradient media)

優點: 萃取出粒線體型態較完整, 純度較高

#### OptiPrep #1893 250 mL

- 為溶液型式, 可隨取即用 (ready-to-use)
- 可在短時間內, 自動形成濃度梯度

#### Nycodenz #18003 500g <通用款>

- 為粉狀, 可自行調配
- 密度高、黏稠度低, 不會有滲透壓的影響
- 產出完整的粒線體較多

\*可額外加入sorbitol作為滲透壓穩定劑

註: Optiprep Density Gradient Media 引用文獻

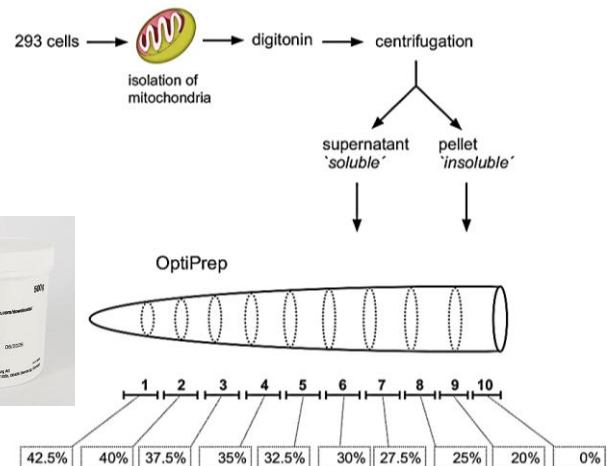
Int J Mol Sci. 2023 May 5;24(9):8301. doi: 10.3390/ijms24098301.

Bio Protoc. 2013 Nov 5;3(21):e961. doi:10.21769/BioProtoc.961.

Mitochondrion. 2006 Jun;6(3):143-8. doi: 10.1016/j.mito.2006.04.002.

Mol Biol Cell. 2002 Jan;13(1):71-83. doi: 10.1091/mbc.01-05-0245.

Anal Biochem. 1994 Aug 1;220(2):367-73. doi: 10.1006/abio.1994.1351.

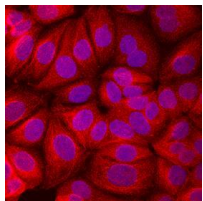


使用Optiprep分離293細胞中的粒線體  
J Cell Sci. 2019 Oct 1;132(19):jcs223891.  
doi: 10.1242/jcs.223891.

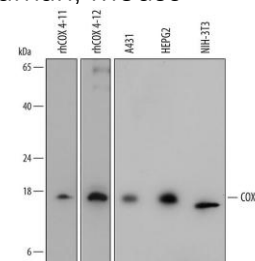
## 粒線體標誌

### Mitochondrial Markers Antibody Pack #NBP3-20213 (11 vials)

- 內含11支抗體:  
8支一抗 & 3支二抗 (for螢光實驗)
- 應用廣泛: WB, ICC/IF, IHC 都適用
- 辨認物種: Human, Mouse



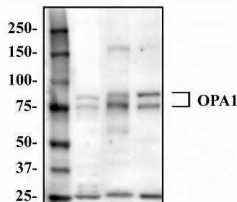
使用IHC/ICC偵測MCF-7細胞Prohibitin表現(紅光)



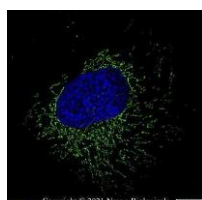
以WB偵測A431, HepG2, NIH-3T3細胞及重組蛋白COX4表現

| 貨號            | 包裝    | 品名                                  | 蛋白質功能                               |
|---------------|-------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| AF3470-SP     | 25 µg | Human Prohibitin Antibody           | 常見的粒線體標誌, 參與粒線體生物合成、代謝及形態           |
| MAB6980-SP    | 25 µg | Human/Mouse COX4 Antibody           | 常見的粒線體標誌                            |
| NB100-56503SS | 25 µg | Cytochrome c Antibody - BSA Free    | 與Apoptosis有關                        |
| NB110-55290SS | 25 µl | OPA1 Antibody - BSA Free            | 常見的粒線體標誌, 與Mitochondrial Dynamics有關 |
| NBP1-71775SS  | 25 µl | Mitofusin 1 Antibody - BSA Free     | 常見的粒線體標誌, 與Mitochondrial Dynamics有關 |
| NBP1-77397SS  | 25 µl | HSP60 Antibody - BSA Free           | 著名的粒線體 Chaperonin, 與蛋白質折疊及多肽的組裝有關   |
| NBP2-24915SS  | 25 µg | SOD1/Cu-Zn SOD Antibody             | 普遍存在於細胞質、細胞核及粒線體膜間隙的酵素              |
| NBP2-66383SS  | 25 µg | Mitofusin 2 Antibody - BSA Free     | 與Mitochondrial Dynamics有關           |
| NL001         | 0.5ml | Donkey anti-Goat Antibody [NL557]   | 螢光二抗 (NL557 Exc/Em=557/574 nm)      |
| NL004         | 0.5ml | Donkey anti-Rabbit Antibody [NL557] |                                     |
| NL007         | 0.5ml | Donkey anti-Mouse Antibody [NL557]  |                                     |

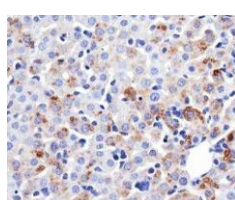
MEF  
A-79  
Brain



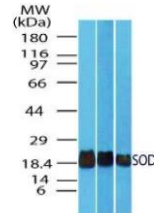
以WB偵測HeLa, MEF及大鼠腦OPA1表現



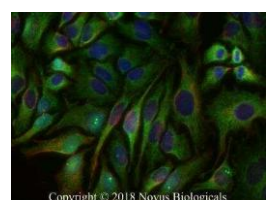
以ICC/IF偵測HeLa細胞HSP60表現



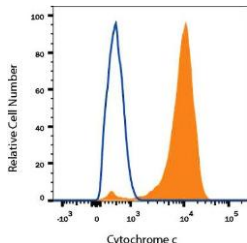
以IHC偵測小鼠肝臟Mitofusin-1表現



使用抗體分析不同肝臟中SOD表現 1.人類 2.小鼠 3.大鼠



以ICC偵測HeLa細胞Mitofusin 2表現

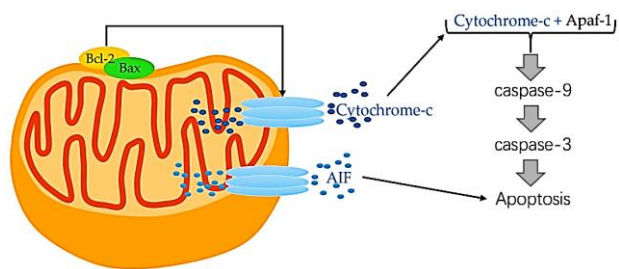


以流式細胞儀偵測HeLa細胞的Cytochrome c表現

## 粒線體標誌及功能

為了反應壓力或其他生物因素，蛋白質的細胞分佈會發生變化，顯示細胞或組織的生理狀態。粒線體標記物在研究目標蛋白的定位是公認的參考，並在顯微鏡下可提供更多關於粒線體結構和形態的細節。粒線體標記物也可作為品質的指標，比如以胞器分離試劑組 (ReadiPrep™ Mitochondrial/Cytoplasmic Fractionation Kit #60005) 獲得蛋白萃取物的純度，透過WB檢測，來評估不同分級 (fraction) 的細胞核、細胞質和粒線體之間潛在的交叉污染。Bio-Techne 提供眾多已發表、且經過驗證的粒線體標誌之抗體，可用於研究這些複雜、動態的胞器。\*僅列舉部分蛋白及1~2支抗體作為代表

### 細胞凋亡 (Apoptosis)

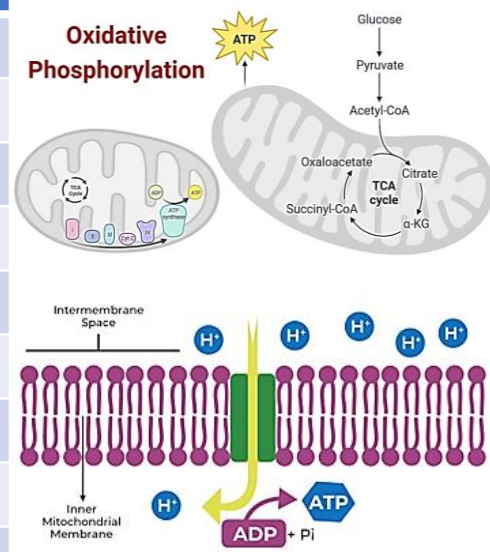


Int. J. Mol. Sci. 2022, 23(4), 2357;  
doi.org/10.3390/ijms23042357

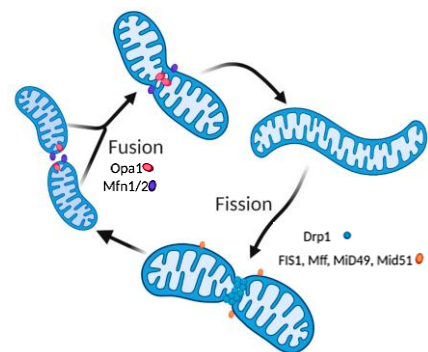
| 名稱           | 貨號                        | 位置            | 功能                                                                                     |
|--------------|---------------------------|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| AIF          | NBP2-37577<br>NBP2-42496  | 膜間隙           | Apoptosis Inducing Factor, 為一種氧化還原酶 (Oxidoreductase), 有助於呼吸鏈的組裝及細胞死亡, 其缺乏會導致粒線體功能障礙。   |
| APAF-1       | NBP1-77000<br>NB100-56074 | 細胞質 (粒線體外)    | 在ATP存在的情況下, cytochrome c會釋放到細胞質中, 然後APAF-1會與cytochrome c結合, 引導凋亡複合體(apoptosome)形成。     |
| Cytochrome c | NB100-56503<br>NBP2-21569 | 膜間隙           | 在電子傳遞和細胞凋亡中間的角色, 從粒線體釋放到細胞質中, 並引發凋亡事件及細胞死亡。                                            |
| PUMA         | NBP1-76639<br>NB100-56370 | 細胞質, 轉位至粒線體外膜 | p53 upregulated modulator of apoptosis, 其活化後會與Bcl-2家族成員相互作用, 促進粒線體凋亡及 cytochrome c的釋放。 |
| SMAC/Diablo  | NB100-56311<br>NB500-213  | 膜間隙           | 在細胞凋亡期間, 會從粒線體釋放到細胞質中, 在細胞質與凋亡蛋白的抑制劑 (IAP) 結合並中和其抑制作用。                                 |

### 氧化磷酸化作用 (Oxidative Phosphorylation)

| 名稱                  | 貨號                        | 位置 | 功能                                                                                                                     |
|---------------------|---------------------------|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ATP5A               | NBP2-92928<br>NBP3-15355  | 內膜 | 粒線體ATP synthase的次單元 (subunit), 有助於ATP合成和質子 (proton) 運輸。                                                                |
| ATP5F1              | NBP1-33465<br>NBP2-15513  | 內膜 | 粒線體ATP synthase的次單元, 利用ETC產生的質子梯度催化ADP產生TP。                                                                            |
| BCS1L               | NBP1-88677<br>NBP2-92916  | 基質 | BCS1-like protein, 參與ETC Complex III組裝的一種伴侶 (chaperon) 蛋白。                                                             |
| COX4                | NB110-39115<br>NBP1-51650 | 內膜 | Cytochrome c Oxidase Subunit IV isoform 1, 為Complex IV的次單元, 負責跨膜傳輸質子, 並將氧氣轉化為水。                                        |
| COX5b               | NBP2-92927<br>NBP2-97091  | 基質 | 為Cytochrome c oxidase complex的次單元, 將電子從cytochrome c轉移到氧氣, 並幫助在內膜上產生質子梯度。                                               |
| MT-CO2 (COII, COX2) | NBP3-16283<br>NBP2-93084  | 內膜 | Mitochondrially Encoded Cytochrome C Oxidase II, 為Complex IV的次單元, 為形成cytochrome c oxidase功能核心的三個次單位之一。                 |
| NDUFC2              | NBP1-59610<br>NBP3-02955  | 基質 | 為NADH dehydrogenase (Complex I)的次單元, 可將電子從NADH轉移到呼吸鏈。                                                                  |
| NDUFB8              | NBP1-88859<br>NBP3-16016  | 基質 | 粒線體膜呼吸鏈NADH dehydrogenase (Complex I)的輔助次單元, 被認為不參與催化作用。                                                               |
| SDHB                | NBP1-87069<br>NBP1-54154  | 內膜 | Succinate dehydrogenase (SDH)一個鐵硫蛋白(iron-sulfur)的次單元, 參與粒線體電子傳遞鏈(ETC)複合物II, 負責將電子從Succinate轉移到 Ubiquinone/ coenzyme Q。 |
| UQCRC1              | NBP2-03825<br>NBP1-85329  | 基質 | 粒線體呼吸鏈中Complex III的次單元, 催化Ubiquinol到cytochrome c的電子轉移。                                                                 |
| UQCRC2              | NBP1-80861<br>NBP1-80862  | 基質 | Ubiquinol-cytochrome-c reductase complex core protein 2, 為Complex III的組成部分, 此蛋白為複合物組裝所必需。                              |



### 粒線體動力學 (Mitochondrial Dynamics) - 粒線體分裂 (Fission) 與融合 (Fusion)



Int. J. Mol. Sci. 2021, 22(15), 8179;  
doi.org/10.3390/ijms22158179

| 名稱                 | 貨號                        | 作用 | 位置 | 功能                                                                        |
|--------------------|---------------------------|----|----|---------------------------------------------------------------------------|
| DRP1               | NB110-55288<br>NBP2-23489 | 分裂 | 外膜 | Dynamin-related protein 1, 在細胞凋亡時粒線體分裂發揮作用, 且為細胞內粒線體正常分佈所必需。              |
| FIS1 (TTC11)       | NBP1-85664<br>NBP3-15848  | 分裂 | 外膜 | 為粒線體複合物的組成部分, 可促進粒線體分裂。                                                   |
| MFF                | NBP1-86799<br>NBP3-22301  | 分裂 | 外膜 | mitochondrial fission factor, 可以與Drp1結合, 形成Mff-Drp1複合物, 促進粒線體分裂。          |
| MiD49 (SMCR7)      | NBP3-45887                | 分裂 | 外膜 | MiD49/51會將Drp1直接吸引到粒線體表面, MiD49/51基因的敲落(knockdown)會降低Drp1的結合, 因而導致無阻礙的融合。 |
| MiD51 (SMCR7L)     | NBP3-45886                | 分裂 | 外膜 |                                                                           |
| Mitofusin 1 (MFN1) | NBP1-71775<br>NBP1-51841  | 融合 | 外膜 | 在粒線體聚集、外膜融合和形態中發揮作用。                                                      |
| Mitofusin 2 (MFN2) | NBP2-66383<br>NBP2-17298  | 融合 | 外膜 | 粒線體外膜融合及在粒線體網路的維護和運作中發揮作用。                                                |
| OPA1               | NB110-55290<br>NBP2-59770 | 融合 | 內膜 | Optic Atrophy 1, 與dynamin相關的GTPases相似, 在粒線體內膜融合中發揮作用。                     |

## ■ 其他粒線體標誌

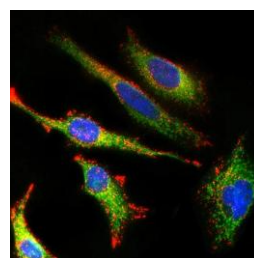
| 名稱         | 貨號                       | 位置   | 功能                                                                                                                  |
|------------|--------------------------|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| HSP60      | NBP1-77397<br>NBP2-32867 | 基質   | Heat Shock Protein 60kDa, 與蛋白質折疊及進入多肽的組裝有關。                                                                         |
| HSP70      | NBP1-77456<br>NBP1-21690 | 基質   | Heat Shock Protein 70kDa, 於蛋白質折疊、降解扮演作用, 與presequence translocase-associated motor (PAM) 結合以驅動前蛋白質 (preprotein) 進入。 |
| Mitofilin  | NB100-1919               | 內膜/脊 | 最豐富的粒線體蛋白質之一, 在維持脊 (cristae) 形態中發揮作用。                                                                               |
| Prohibitin | NBP1-87283<br>NBP2-37563 | 內膜   | 表現出抗增殖活性, 並被認為在正常細胞週期調控、複製老化、細胞永生化和腫瘤抑制中發揮作用。                                                                       |
| TIMM23     | NBP2-93133<br>NBP3-45240 | 內膜   | 內膜轉位酶 23 (translocase of inner membrane 23, TIM23) 複合物的次單位, 其功能是将含肽的蛋白質運送穿過內膜。                                      |
| TOMM20     | NBP1-81556<br>NBP2-67501 | 外膜   | 與 TOM22 一起作為轉運胜肽的受質, 促進前蛋白進入 TOM40 易位孔。                                                                             |
| VDAC1      | NB100-695                | 外膜   | Voltage dependent anion channel, 允許物質於細胞質和粒線體之間進出。為 PINK/Parkin 引導之自噬作用的重要受質。                                       |

## 粒線體的型態及構造

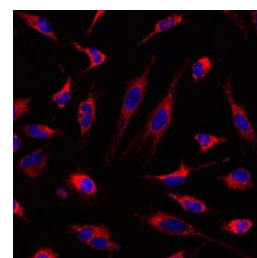
### ■ 活細胞之粒線體影像染劑 - MitoLite™

#### MitoLite 探針特色

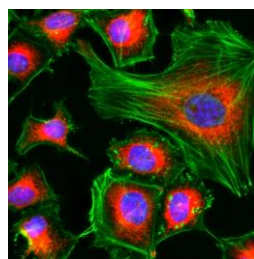
- 專一性高：為陽離子螢光探針，透過膜電位梯度 ( $\Delta\Psi_m$ )，可選擇性地累積在活性粒線體中
- 螢光強、亮度高：具高訊號/雜訊比 (S/N ratio)，且訊號穩定，適用於高影像解析系統
- 染色流程簡單：無需清洗即可成像
- 光譜範圍廣 (藍色到近紅外光)：可進行多重染色，能與其他螢光探針進行共同定位 (co-localization) 研究
- 細胞分裂後仍可觀察：適用於增殖和非增殖中的細胞
- 細胞種類不限：懸浮型及貼附型細胞皆適用
- MitoLite™ FX 系列染劑：在固定和打洞後，仍保留螢光染色模式，可與抗體共染



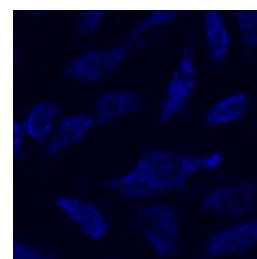
MitoLite™ Green FM  
(Cat No. 22695)



MitoLite™ Red CMXRos  
(Cat No. 22698)



MitoLite™ NIR FX690  
(Cat No. 22690)



MitoLite™ Blue FX490  
(Cat No. 22674)

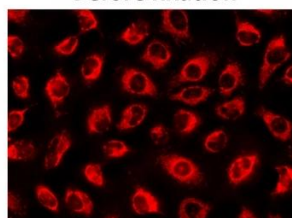
| 品名                                                         | 貨號    | 包裝        | kit貨號 | Fixable | Ex/Em   | 應用          |
|------------------------------------------------------------|-------|-----------|-------|---------|---------|-------------|
| MitoLite™ Green FM<br>(相當於t牌的 MitoTracker Green FM #M7514) | 22695 | 10x50 µg  | -     | No      | 508/528 | 活細胞<br>影像染色 |
| MitoLite™ Green EX488                                      | 22675 | 500 Tests | 22666 | No      | 508/528 |             |
| MitoLite™ Red CMXRos<br>(相當於t牌的 MitoTracker™ Red CMXRos)   | 22698 | 10x50 µg  | 22668 | Yes     | 579/599 |             |
| MitoLite™ Red FX600                                        | 22677 | 500 Tests | -     | Yes     | 580/598 |             |
| MitoLite™ Deep Red FX660                                   | 22678 | 500 Tests | 22669 | Yes     | 640/659 |             |
| MitoLite™ NIR FX690                                        | 22690 | 500 Tests | 22670 | Yes     | 658/691 |             |
| MitoLite™ Orange EX405                                     | 22679 | 500 Tests | 22673 | No      | 422/522 |             |
| MitoLite™ Orange FX570                                     | 22676 | 500 Tests | 22667 | Yes     | 553/576 |             |
| MitoLite™ Blue FX490                                       | 22674 | 500 Tests | 22665 | Yes     | 344/469 |             |

### ■ 可固定之粒線體影像染劑 - CytoFix™ Red

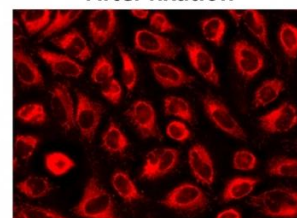
#### CytoFix™ Red Fixable Mitochondrial Stain特色

- 可固定 (fixation)：具增強的細胞保留能力，固定後可長時間保留螢光
- 染色效率高：可用於長期追蹤粒線體
- 可進行多重色分析：與其他螢光接合物或胞器染劑共染
- 細胞種類不限：可用於貼附型細胞及懸浮細胞 (如Jurkat)
- 染色快速，操作時間短

Before fixation



After fixation



培養於 96 孔黑壁透明底盤之 HeLa 細胞，以 CytoFix™ MitoRed (#23200) 染色。左圖為固定前，右圖為使用 4% 甲醛 (formaldehyde) 溶液於室溫下固定 20 分鐘，最後使用 Cy3/TRITC 濾片模組偵測

| 品名                               | 貨號    | 包裝        | Fixable | Ex/Em   | 應用      |
|----------------------------------|-------|-----------|---------|---------|---------|
| CytoFix™ Red Mitochondrial Stain | 23200 | 500 Tests | Yes     | 540/590 | 活細胞影像染色 |

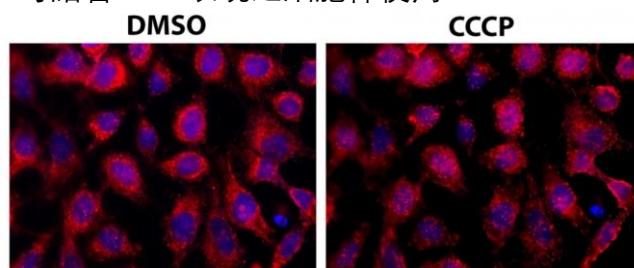
# 粒線體自噬 (Mitophagy)

## ■ 觀察粒線體自噬的型態

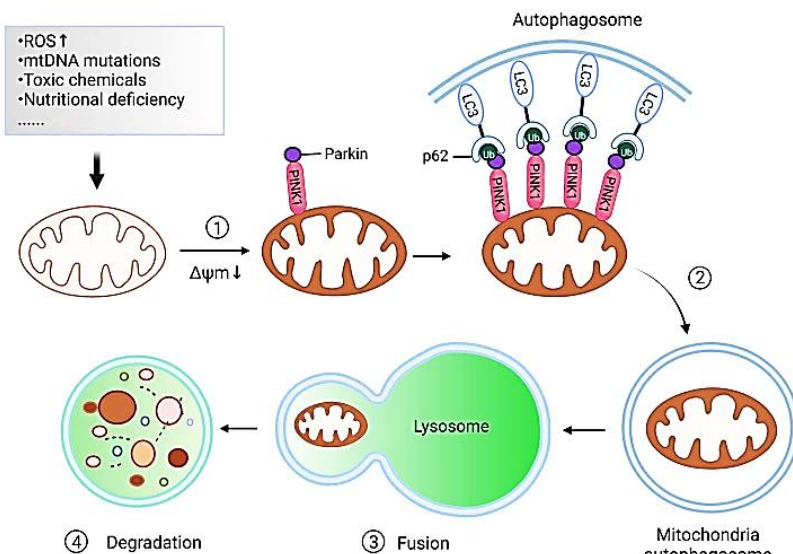
### Cell Meter™ Mitochondrial Autophagy Imaging Kit (紅色螢光)

#22298 100 Tests

- 使用粒線體自噬探針 - Mitophagy Red™
- 可用於哺乳動物細胞，貼附型及懸浮型細胞
- (於活細胞中) 染色模式穩定，作用快速且均勻
- 檢測條件與細胞培養基相容
- 可結合 GFP 表現之細胞株使用



使用 Mitophagy Red™ 及 Hoechst 33342 (Cat#17535) 染 HeLa 細胞後，以 Cy3/TRITC 濾片觀察。  
右圖為添加前，左圖為添加 CCCP (10 μM) 作用1分鐘後

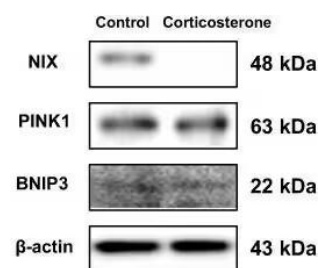


Theranostics. 2023 Jan 1;13(2):736–766. doi: 10.7150/thno.79876

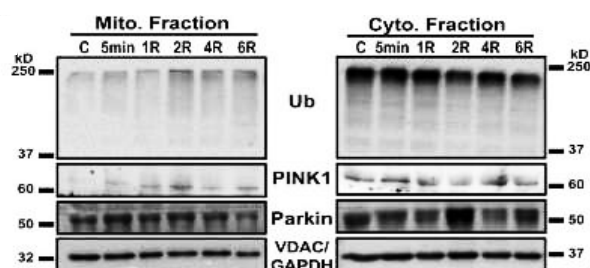
## ■ 偵測粒線體自噬之標記

| 目標蛋白         | 抗體貨號        | 抗體種類              | 辨認物種                                                                           | 實驗應用                                                                           |
|--------------|-------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| BAK          | NBP1-77152  | Rabbit Polyclone  | Hu, Mu                                                                         | WB, ELISA, ICC/IF                                                              |
| BNIP3        | NBP1-77683  | Rabbit Polyclone  | Hu, Mu, Rt                                                                     | WB, Flow, ICC/IF, IHC                                                          |
| DRP1         | NB110-55288 | Rabbit Polyclone  | Hu, Mu, Rt, Fi, Pm, Bv                                                         | WB, Simple Western, Flow, ICC/IF, IHC, IP                                      |
| FIS1 (TTC11) | NBP2-43628  | Mouse Monoclonal  | Hu, Mu, Rt, Bv, RM                                                             | WB, Flow, ICC/IF                                                               |
| LC3B         | NB100-2220  | Rabbit Polyclone  | Hu, Mu, Rt, Po, Al, Av, Ba, Bv, Ca, Ch, ChHa, Gp, Ha, In, Pm, Pm, Rb, SyHa, Ze | WB, Simple Western, ELISA, Flow, Func, ICC/IF, IHC, IP, PAGE, WB, ChIP, KD, KO |
|              | NBP2-46892  | Rabbit Monoclonal | Hu, Mu, Rt, Po, Bt, Bv, Fi, Xp, Ze                                             | WB, Flow, ICC/IF, IHC, IP, KO                                                  |
|              | NBP2-59800  | Rabbit Monoclonal | Hu, Mu, Rt                                                                     | WB, Simple Western, Flow, ICC/IF, IHC, KO                                      |
| NDP52        | NBP2-03246  | Mouse Monoclonal  | Hu, Pm                                                                         | WB, Flow, ICC/IF                                                               |
| Nix (BNIP3L) | NBP1-88558  | Rabbit Polyclone  | Hu, Mu, Rt                                                                     | WB, ICC/IF, IHC                                                                |
| p62/SQSTM1   | NBP1-42822  | Rabbit Polyclone  | Hu, Mu, Rt                                                                     | WB, Simple Western, Flow, ICC/IF, KO                                           |
| Parkin       | NBP2-67017  | Rabbit Monoclonal | Hu, Mu, Rt                                                                     | WB, Flow, ICC/IF, IHC, IP                                                      |
| PINK1        | BC100-494   | Rabbit Polyclone  | Hu, Mu, Rt, Rb                                                                 | WB, ELISA, ICC/IF, IHC, IP, MS, PAGE, WB, KD, KO                               |
| VDAC1        | NB100-695   | Rabbit Polyclone  | Hu, Mu, Rt, Fi                                                                 | WB, Simple Western, ELISA, IHC, KD                                             |
| VDAC2        | NBP2-20849  | Rabbit Polyclone  | Hu, Mu, Rt, Po, Bv, Rb, RM                                                     | WB, ELISA, ICC/IF, IHC, IP                                                     |
| VDAC3        | NBP2-94176  | Rabbit Polyclone  | Hu, Mu                                                                         | WB, ELISA, ICC/IF, IHC                                                         |

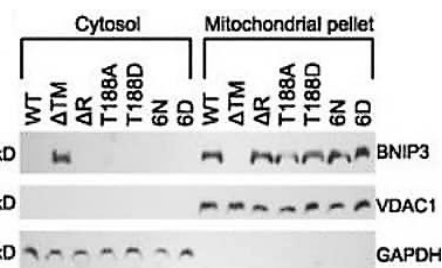
\*僅列舉一支文獻引用之抗體作為代表



以WB偵測粒線體中 NIX (#NBP1-88558), PTEN-induced kinase 1 (PINK1) 及 BCL2 interacting protein 3 (BNIP3) 表現



以WB偵測粒線體及細胞質內 PINK1 (#BC100-494), Parkin 及 Ubiquitin (Ub) 的表現，由 VDAC 及 GAPDH 來定蛋白質的量



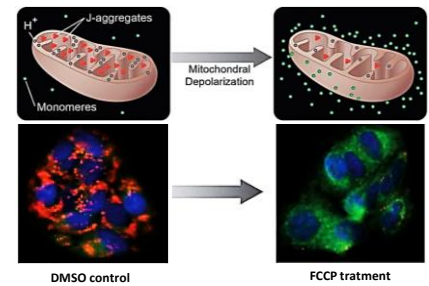
以WB偵測細胞質及粒線體內 BNIP3 磷酸化突變體 (phosphomutants) 的胞器定位及 VDAC (#NB100-695) 表現  
//dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0129667

# 粒線體功能及分析

## ■ 粒線體膜電位 (Mitochondrial membrane potential, MMP) 變化

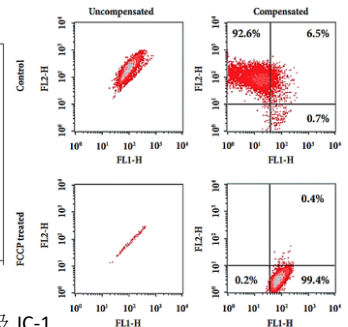
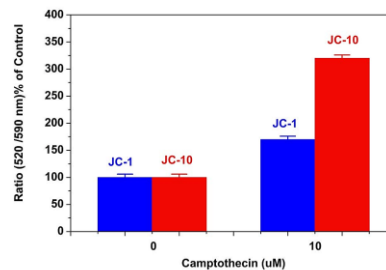
### ➤ JC-10™ 粒線體膜電位探針

JC-10 為 JC-1 的衍生物，是一種電位依賴性的探針，可使用流式細胞儀、螢光顯微鏡及螢光微量盤分析來測量膜電位。在健康細胞中，JC-10 選擇性地累積在粒線體中，產生**橙色**J 聚集體，表現出寬廣的激發光譜且在 590 nm 處有最大發射光譜。然而，在膜電位較低，如凋亡 (apoptotic) 及壞死 (necrotic) 細胞中，JC-10 會擴散出粒線體並產生 JC-10 單體，導致發射光轉向**綠光** (525 nm)。JC-10 可以定性及定量地看到膜電位的變化，發射光從**橙色**轉變成**綠色**螢光及螢光強度比。



### JC-10™ 特色

- 為雙散發波長之膜電位( $\Delta\Psi_m$ )探針
- 使用容易：水溶液形式，溶解度高不易沉澱
- 穩定性高：溶解性強且靈敏度高，檢測偏差更小
- 訊號較強：訊號雜訊比 (S/N ratio) 高，螢光強度約為 JC-1 的2倍
- 靈敏度高：能檢測細微的膜電位變化/損失
- 方便：可用於螢光微量盤分析儀、螢光顯微鏡和流式細胞儀



於 Jurkat 細胞中，使用 JC-10™ (#22204) 及 JC-1 (#22200) 偵測 Camptothecin 誘導之粒線體膜電位變化。使用微量盤分析儀於 Ex/Em = 490/525 nm 及 540/590 nm 測量 JC-1 和 JC-10™ 之 J 聚集體和單體的螢光強度。

Jurkat 細胞以 FCCP 誘導粒線體膜電位的變化

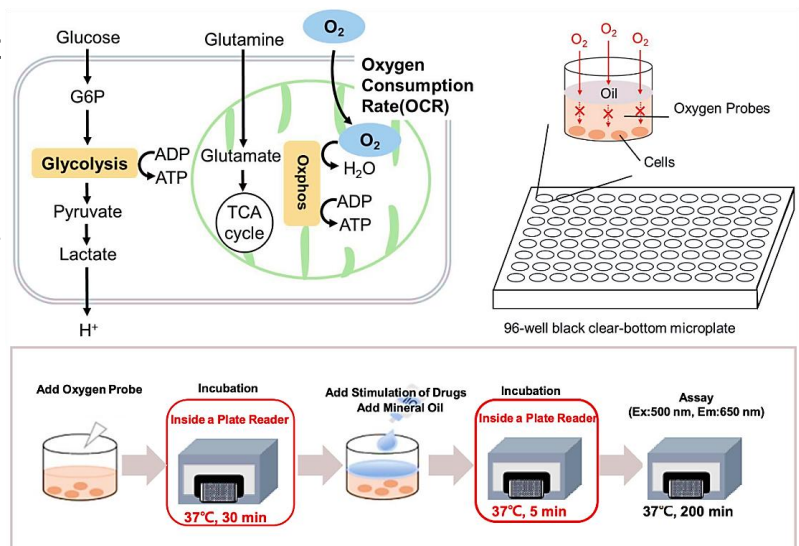
| 品名                                                           | 貨號                         | 包裝            | Ex/Em (monomer) | Ex/Em (aggregate) | 偵測濾片組 (monomer/aggregate) |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------|---------------|-----------------|-------------------|---------------------------|
| JC-10™ (JC-1 最佳替代品)                                          | 22204                      | 5x100 $\mu$ L |                 |                   | FITC/TRITC                |
| Cell Meter™ JC-10 Mitochondrion Membrane Potential Assay Kit | 22800 for Microplate assay | 500 Tests     | 508/524         | 508/570           | Cutoff : 515 nm/ 570nm    |
|                                                              | 22801 for Flow cytometry   | 100 Tests     |                 |                   | FITC/ PE channel          |

## ■ 粒線體的耗氧量 (mitochondrial oxygen consumption)

粒線體的氧化磷酸化會消耗氧氣產生 ATP。因此，偵測細胞內的耗氧率 (Oxygen Consumption Rate, OCR) 是粒線體功能的指標之一。癌細胞透過糖解作用產生 ATP，其效率低於氧化磷酸化。在免疫細胞中，氧化磷酸化占主導地位時會抑制抗腫瘤作用，而醣解系統主導時則會促進抗腫瘤作用。測量細胞的 OCR 可以作為其能量代謝的指標。

### Oxygen Consumption Rate Assay Kit

- 操作容易：使用氧氣探針 (oxygen probe)，當培養基中的氧氣濃度降低時，磷光強度會增加
- 含礦物油或 Sealing Solution：可以阻止空氣中的氧氣流入，避免干擾實驗結果
- 偵測簡單：使用螢光分析儀即可判讀，不需特殊的培養基、盤子或設備



| 貨號        | 品名                                                   | EX/Em   | 偵測方式 | 包裝       |
|-----------|------------------------------------------------------|---------|------|----------|
| KA7153    | Oxygen Consumption Rate Assay Kit                    | 500/650 | 磷光   | 96 Tests |
| E-BC-F068 | Oxygen Consumption Rate (OCR) Fluorometric Assay Kit | 405/675 | 螢光   | 96 Tests |

## ■ 粒線體的鈣離子/鈣通量 (Mitochondrial Calcium Flux)

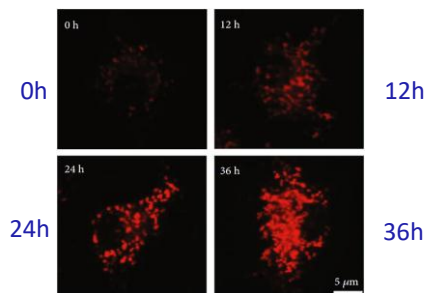
細胞內的  $\text{Ca}^{2+}$  主要儲存在粒線體及內質網等細胞器中，在訊號傳遞、血液凝結、跨膜的離子運輸和細胞分裂等過程中發揮重要作用。粒線體  $\text{Ca}^{2+}$  是氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation) 的中樞調節器，在控制 ATP 合成中扮演關鍵角色。 $\text{Ca}^{2+}$  的失衡會導致粒線體功能異常，甚至細胞損傷和死亡，進而導致病理變化。

### ➤ 粒線體鈣離子探針/染劑

#### Rhod-2

- 為 Rhodamine 123 的衍生物，與鈣離子結合後可產生螢光
- 為波長最長 (long-wavelength) 的鈣離子探針，容易激發
- 帶正電荷 (與 AM 酯結合的形式)，主要累積於粒線體內
- 可隨著鈣離子濃度而增加螢光強度
- 可使用螢光顯微鏡、流式細胞儀、螢光光譜儀及螢光分析儀等偵測，研究細胞內遊離  $\text{Ca}^{2+}$  濃度的變化

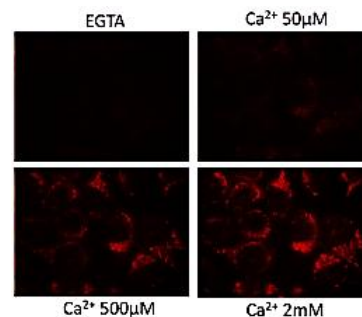
\* 對於偵測粒線體中的鈣，rhod-2 是一種有效的替代方案。  
若目標是量化粒線體膜電位，而不是定性的染胞器，則使用 JC-10 探針較合適。



將 Rhod-2 (10uM) 加入細胞作用2小時，以PBS清洗後，以流式細胞儀偵測螢光，並使用螢光顯微鏡觀察

#### Rhod-5N

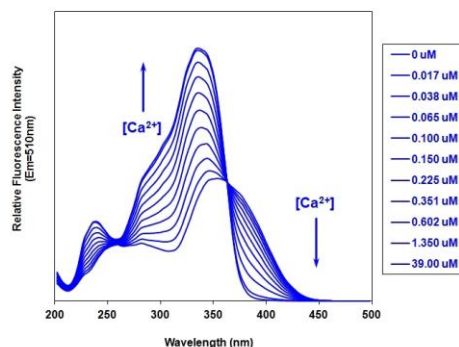
- 對  $\text{Ca}^{2+}$  的結合親和力極低  $K_d \approx 320 \mu\text{M}$  (比起其他 BAPTA-based 的探針)
- 在結合  $\text{Ca}^{2+}$  後螢光可大大的增強，且無光譜偏移
- 適合測量  $10 \mu\text{M} \sim 1 \text{mM}$  的  $\text{Ca}^{2+}$
- 適用於螢光顯微鏡、流式細胞儀、螢光光譜儀及螢光分析儀
- 建議添加 Pluronic® F-127 (對細胞無毒之非離子型介面活性劑)，以增加 Rhod-5N 的溶解度



摘自 Cell Calcium Volume 51, Issue 1, January 2012, Pages 65-71

#### Fura-2

- 一種激發比率染料，為常見的比率型 (ratiometric) 鈣指示劑之一
- 吸光時光譜會發生偏移 (340/380 nm)，可避免在收集訊號時產生的偽訊號，獲得更可靠的  $\text{Ca}^{2+}$  測量值
- 具多種優點：可減輕染劑的用量、洩漏 (leaking) 及光漂白 (photo-bleaching) 等影響 <與單波長鈣探針 (如 Fluo-4) 相比>
- 偵測方式：與  $\text{Ca}^{2+}$  結合後，透過掃描 300~400 nm 之間的激發光譜來觀察，同時監測 ~510 nm 處的發射



Fura-2™ 於 0~39  $\mu\text{M}$  游離  $\text{Ca}^{2+}$  存在下的激發光譜

| 品名      | Ex/Em              | 偵測濾片組 | AM 型式                                                                                   | 鹽類型式                                                        |
|---------|--------------------|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Rhod-2  | 549/578            | TRITC | 21060 1mg<br>21062 1mg (UltraPure Grade)<br>21064 20x50 $\mu\text{g}$ (UltraPure Grade) | 21067 1mg (tripotassium salt)<br>21068 1mg (trisodium salt) |
| Rhod-5N | 557/580            | TRITC | 21070 1mg                                                                               | 21072 1mg (tripotassium salt)                               |
| Fura-2  | 363/512<br>336/505 | FITC  | 21020 1mg<br>21021 1mg (UltraPure Grade)<br>21023 20x50 $\mu\text{g}$ (UltraPure Grade) | 21026 1mg (pentasodium salt)                                |

### ➤ 其他相關藥品

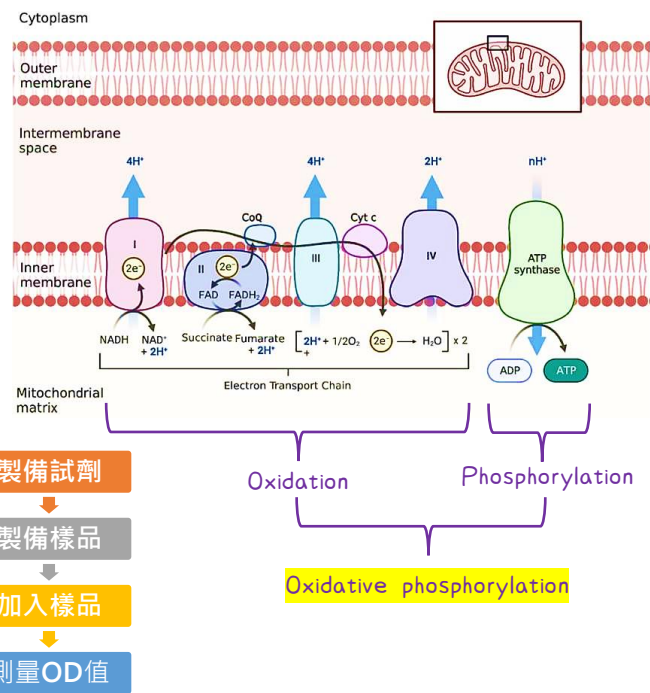
\*與鹽類形式相比，AM (acetoxymethyl ester) 為可自行穿透細胞膜的酯類型式。

| 品名              | 貨號                                                           | 包裝                                                                                     | 建議使用濃度                                                    |
|-----------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Pluronic® F-127 | 2050<br>2025<br>2053                                         | 10g (Cell culture tested)<br>10ml (20% solution in DMSO)<br>10ml 10% solution in water | Rhod-2 AM : 0.04%<br>Rhod-5N : 0.04%<br>Fura-2 AM : 0.04% |
| Probenecid      | HY-B0545<br>20060 (Cell culture tested)<br>20062 (ReadiUse™) | 10 mM * 1 mL in DMSO, 500 mg, 1g<br>10x72 mg<br>10x10 mL (25 mM)                       | 2.5 mM                                                    |

\* Probenecid: 為細胞膜有機陰離子 transporter 的抑制劑，這些 transporter 通常會將螢光指示劑從細胞中擠出，導致染劑保留效果不佳。  
Probenecid 可減少螢光探針的洩漏，改善在細胞內的保留效果、增加訊號強度。

■ 氧化磷酸化 (Oxidative Phosphorylation, OXPHOS)  
電子傳遞鏈 electron transport chain (ETC)/呼吸鏈 (respiratory chain)

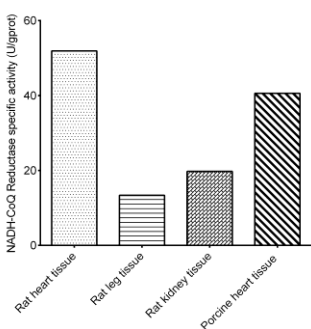
電子傳遞鏈又稱呼吸鏈，是氧化磷酸化的一部分，位於原核生物細胞膜或真核生物的粒線體內膜上。粒線體是細胞內的“能量工廠”，為細胞進行有氧呼吸的主要場所，其功能是透過氧化磷酸化作用 (Oxidative Phosphorylation) 將能量轉化，為細胞活動提供能量。將電子從 NADH 和 FADH<sub>2</sub> 轉移到氧氣的過程稱為氧化磷酸化，其目標是產生 ATP。在此過程中，電子會經歷多個氧化還原反應，包括氧氣分解、質子幫浦 (proton pumping)、電子傳遞、傳輸及 ATP 合成等過程。



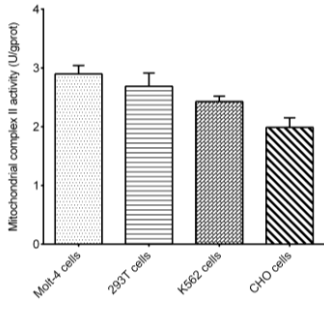
➤ 粒線體複合物的活性測定  
**Mitochondrial Complex Activity Assay kits**

- 操作簡單
- 偵測方便：使用一般 ELISA reader 即可偵測 (呈色法)
- 細胞或組織皆有適用之套組
- 含萃取溶液 (Extraction solution) 及抑制劑(inhibitor)

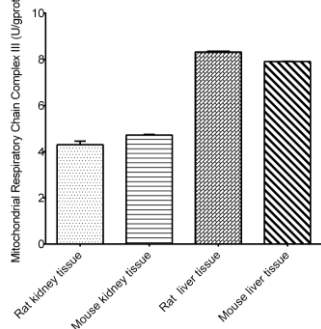
| 品名                                                | 貨號          | 包裝       | 偵測目標                              | 樣品類型     | 偵測物種                    | 偵測波長   |
|---------------------------------------------------|-------------|----------|-----------------------------------|----------|-------------------------|--------|
| Mitochondrial Complex I Activity Assay Kit        | NBP3-25843  | 96 Tests | NADH-CoQ reductase                | 動物組織     | Mouse, Rat, Porcine     | 340nm  |
| Cell Mitochondrial Complex I Activity Assay Kit   | E-BC-K834-M |          |                                   | 細胞       | Human                   |        |
| Mitochondrial Complex II Activity Assay Kit       | NBP3-25854  | 96 Tests | Succinate-Coenzyme Q reductase    | 動物組織     | Mouse, Rat              | 600 nm |
| Cell Mitochondrial Complex II Activity Assay Kit  | E-BC-K835-M |          |                                   | 細胞       | Human                   |        |
| Mitochondrial Complex III Activity Assay Kit      | NBP3-25841  | 96 Tests | Coenzyme Q-Cytochrome C reductase | 動物組織     | Mouse, Rat              | 550 nm |
| Cell Mitochondrial Complex III Activity Assay Kit | E-BC-K836-M |          |                                   | 細胞       | Human                   |        |
| Mitochondrial Complex IV Activity Assay Kit       | NBP3-25855  | 96 Tests | Cytochrome C oxidase              | 動物組織     | Mouse, Rat              | 550 nm |
| Cell Mitochondrial Complex IV Activity Assay Kit  | E-BC-K837-M |          |                                   | 細胞       | Human                   |        |
| Mitochondrial Complex V Activity Assay Kit        | NBP3-25842  | 96 Tests | F0F1-ATPase/ATP synthase          | 動物組織, 細胞 | Mouse, Rat, Human cells | 340 nm |
| Cell Mitochondrial Complex V Activity Assay Kit   | E-BC-K838-M |          |                                   | 細胞       | Human cells             |        |



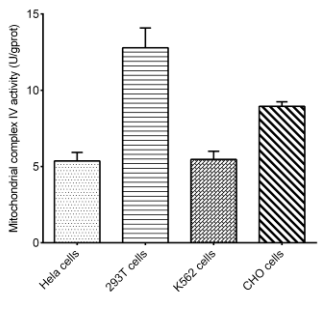
使用NBP3-25843偵測不同組織中粒線體複合物 I 的活性



使用E-BC-K835-M偵測不同細胞中粒線體複合物 II 的活性



使用NBP3-25841偵測不同組織中粒線體複合物 III 的活性



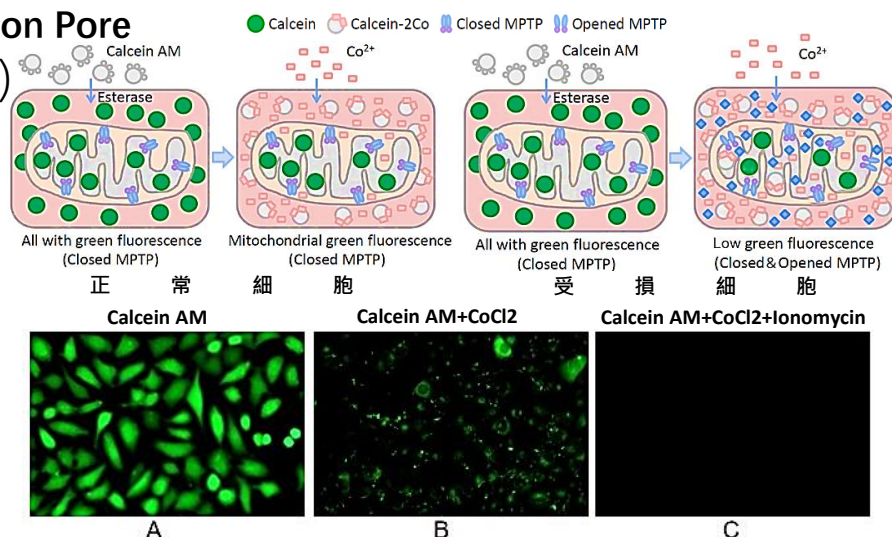
使用E-BC-K835-M偵測不同細胞中粒線體複合物 IV 的活性

## ➤ 偵測粒線體的通透性轉換孔 (permeability transition pores, PTP)

### Mitochondrial Permeability Transition Pore

#### Assay #KTA4002 (50 Tests, 100 Tests)

- 安全、幾乎對細胞無毒性
- 用途多元：可用於螢光顯微鏡及流式細胞儀 (flow cytometry)
- 貼附細胞及懸浮細胞皆可檢測
- 能更直接地檢測 PTP 開放程度的變化 (與基於粒線體膜電位的方法相比)
- Ex/Em = 494/517 nm
- 含 Calcein AM,  $\text{CoCl}_2$ , Ionomycin 及 Assay Buffer



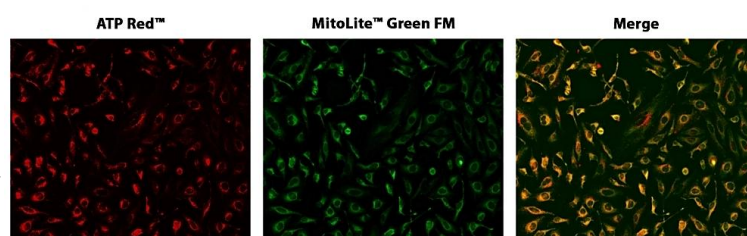
## ➤ 粒線體 ATP 含量測定

### Cell Meter™ Live Cell ATP Assay Kit

#### #23015 (100 Tests)

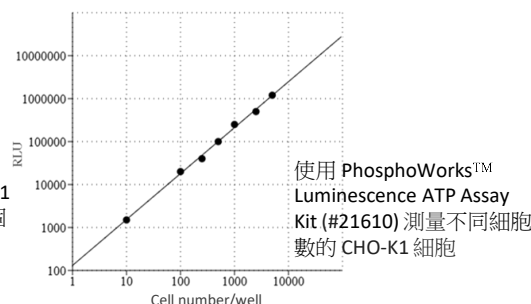
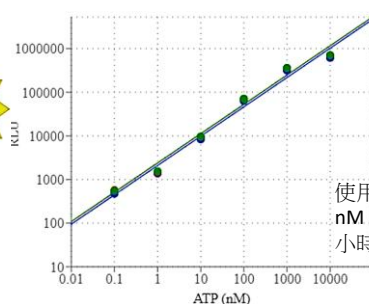
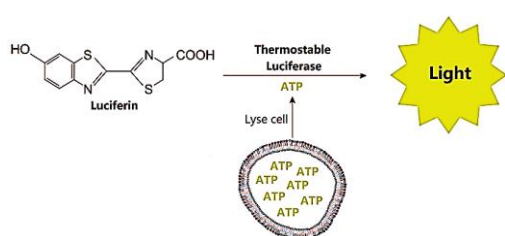
- 使用一種可通過細胞的紅色螢光探針-ATP Red
- 此探針與 AMP、ADP、CMP、CDP、CTP、UMP、UDP、UTP、GMP、GDP 及 GTP 有極小交叉反應
- 使用 Cy3/TRITC filter set 觀察

使用  $\text{CoCl}_2$  淬滅掉 (quench) 細胞質中 Calcein 的綠色螢光，留下粒線體的螢光  
控制組：加入 Ionomycin，使細胞負載更多的  $\text{Ca}^{2+}$ ，活化 MPTP，來淬滅掉粒線體的螢光



使用 ATP Red™ (#23015) 及 MitoLite™ Green FM (#22695) 共同染色 HeLa 細胞

| 品名                                                     | 貨號                             | 包裝                                     | 偵測方式                       | 特色                                                                                                                                                                                                     | 原理                                                 |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| PhosphoWorks™ Colorimetric ATP Assay Kit               | 21617                          | 100 tests                              | ELISA reader (OD 570nm)    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 使用一般可見光即可進行定量</li> <li>• 可偵測約 <math>3\mu\text{M}</math> 的 ATP</li> <li>• ADP 和 AMP 的干擾極小</li> </ul>                                                           | 利用 ATP 誘導之酵素與受質反應，進行定量                             |
| PhosphoWorks™ Fluorimetric ATP Assay Kit               | 21620                          | 100 tests                              | 螢光分析儀 (Ex/Em = 540/590 nm) | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 可偵測 nM 等級的 ATP (約 <math>0.4\mu\text{M}</math>)</li> <li>• ADP 和 AMP 的干擾極小</li> </ul>                                                                          | 利用螢火蟲酵素-luciferase 催化 ATP 及 luciferin 釋放的光，來檢測 ATP |
| ReadiUse™ Rapid Luminometric ATP Assay Kit             | 21601<br>21602                 | 100 tests (10ml)<br>1000 tests (100ml) | 冷光分析儀                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 快速簡單、隨取即用，無需另外稀釋試劑</li> <li>• 偵測靈敏度：50 cells/well</li> <li>• 發光訊號穩定：大於 2 小時</li> <li>• 不使用 DTT，無難聞氣味</li> <li>*如需定量，可加購 ATP Standard (10mM #17198)</li> </ul> | 利用螢火蟲酵素-luciferase 催化 ATP 及 luciferin 釋放的光，來檢測 ATP |
| CellCounting-Lite 2.0 Luminescent Cell Viability Assay | DD1101-01<br>DD1101-02         | 10ml<br>100ml                          |                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 操作簡單，只需一步驟加入試劑即可偵測</li> <li>• 發光強度與 ATP 的量成正比，可用於定量檢測活細胞數</li> <li>*如需定量，可加購 ATP Standard</li> </ul>                                                          |                                                    |
| PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kit               | 21609 (Extended Luminescence)  | 1 Plate                                |                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 發光訊號長：長達 4 小時的穩定發光訊號</li> <li>• 無需混合或分離，減少操作時間</li> </ul>                                                                                                     |                                                    |
|                                                        | 21610 (Maximized Luminescence) | 1 Plate                                |                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 偵測靈敏度極高：可偵測 10 cells/well 的細胞</li> <li>• 無需混合或分離，減少操作時間</li> </ul>                                                                                            |                                                    |
|                                                        | 21612 (DTT-Free)               | 1 Plate                                |                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 不使用 DTT，無難聞氣味</li> <li>• 發光訊號長：4 小時穩定發光訊號</li> </ul>                                                                                                          |                                                    |



■ 測量粒線體 ROS (Reactive Oxygen Species, 活性氧)

➤ ROS 探針

ROS Brite™ 特色

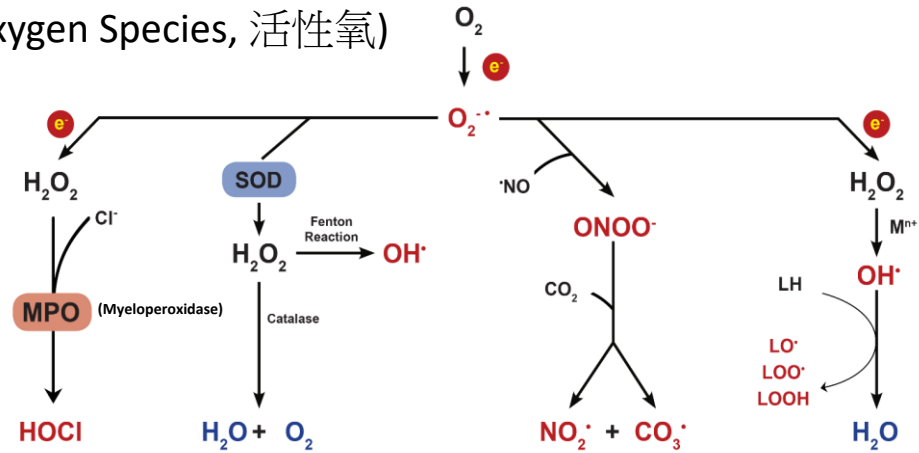
- 為新型螢光探針，用於測量細胞氧化壓力
- 具細胞滲透性，經由 ROS 氧化後會產生明亮的螢光
- 可使用螢光設備讀取訊號，如螢光顯微鏡、高通量螢光影像擷取與分析系統、螢光分析儀或流式細胞儀

Amplite™ ROS 特色

- 使用快速方便：細胞與試劑混合後，即可讀取螢光
- 可於 1-2 小時內檢測活細胞內的 ROS
- 可用於量化 ROS 活性或篩選 ROS 抑制劑

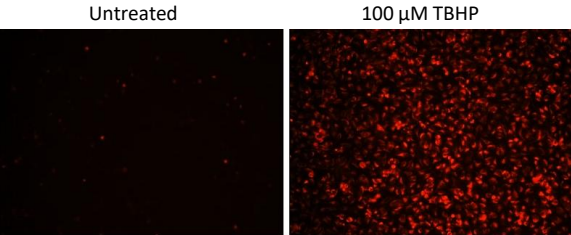
MitoROS Brite™ 特色

- 在活細胞內具有很強的保留性
- 針對粒線體過氧化物有專一性
- 雜訊低，訊號/雜訊比高 (S/N ratio)
- 可與其他粒線體探針進行多重分析

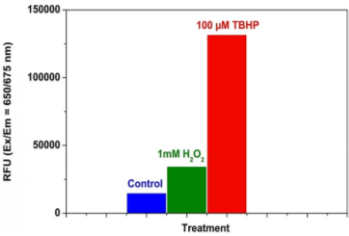


| 偵測目標                                                      | 品名 (探針名稱)                                                                               | Ex/Em   | 貨號                        | 包裝        |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|---------|---------------------------|-----------|
| Total ROS                                                 | ROS Brite™ 570                                                                          | 540/570 | 22902                     | 200 tests |
|                                                           | ROS Brite™ 670                                                                          | 658/675 | 22903                     | 200 tests |
|                                                           | ROS Brite™ 700                                                                          | 680/706 | 16004 (in Vivo Imaging)   | 1mg       |
|                                                           | ROS Brite™ HDCF                                                                         | 560/575 | 16053                     | 1mg       |
|                                                           | ROS Brite™ APF*                                                                         | 498/517 | 16050                     | 1mg       |
|                                                           | ROS Brite™ HPF*                                                                         | 498/517 | 16051                     | 1mg       |
|                                                           | Amplite™ ROS Green                                                                      | 490/525 | 22900 (imaging)           | 200 tests |
|                                                           | Amplite™ ROS Red                                                                        | 520/605 | 22901                     | 200 tests |
| O <sub>2</sub> • <sup>-</sup> (超氧陰離子)<br>Superoxide anion | MitoROS™ 520                                                                            | 513/537 | 16060                     | 200 tests |
|                                                           | MitoROS™ 580                                                                            | 510/580 | 16052                     | 500 tests |
|                                                           | Cell Meter™ Fluorimetric Mitochondrial Superoxide Activity Assay Kit (使用MitoROS™ 580探針) | 500/582 | 22971 (Microplate Reader) | 200 tests |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (過氧化氫)<br>Hydrogen peroxide | DCHF-DA                                                                                 | 505/526 | 15204                     | 25mg      |
|                                                           | Dihydrorhodamine 123                                                                    | 508/528 | 15206                     | 10mg      |
|                                                           | OxiVision Green                                                                         | 498/517 | 11503 (imaging)           | 200 tests |
|                                                           | OxiVision™ Blue                                                                         | 405/450 | 11504 (imaging)           | 100 tests |
|                                                           | Amplite® Colorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit                                       | 650/ -  | 11500 (Microplate Reader) | 500 tests |
|                                                           | Amplite® Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit                                       | 571/584 | 11501 (Microplate Reader) | 500 tests |
| •OH (羥基自由基)<br>Hydroxyl radical                           | Amplite® Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit                                       | 648/668 | 11502 (Microplate Reader) | 500 tests |
|                                                           | MitoROS™ OH580<br>(Cell Meter™ Mitochondrial Hydroxyl Radical Detection Kit)            | 576/598 | 16055                     | 200 tests |
| HOCl (次氯酸)<br>Hypochlorous acid                           | Amplite® Colorimetric Hypochlorite Assay Kit                                            | 575/ -  | 13845 (Microplate Reader) | 200 tests |
|                                                           | Amplite® Fluorimetric Hypochlorite Assay Kit                                            | 555/576 | 13846 (Microplate Reader) | 200 tests |
| ONOO <sup>-</sup> (過氧亞硝基陰離子)<br>Peroxynitrite anion       | DAX-J2™ PON Green<br>(Cell Meter™ Fluorimetric Intracellular Peroxynitrite Assay Kit)   | 490/530 | 16315                     | 100 tests |
| NO (一氧化氮)<br>Nitric oxide                                 | DAX-J2™ Orange                                                                          | 552/575 | 16300                     | 1mg       |
|                                                           | DAX-J2™ Red                                                                             | 587/609 | 16301                     | 1mg       |
|                                                           | DAX-J2™ IR                                                                              | 778/792 | 16302                     | 1mg       |

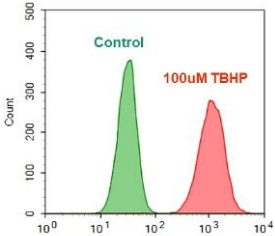
\*與其他ROS相比，APF 及 HP F對羥基自由基 (hydroxyl radical •OH) 具有良好的選擇性，也會與過氧亞硝基陰離子 (ONOO<sup>-</sup>) 或次氯酸根陰離子 (ClO<sup>-</sup>，為hypo-chlorous acid HOCl 的共軛鹼) 產生反應。



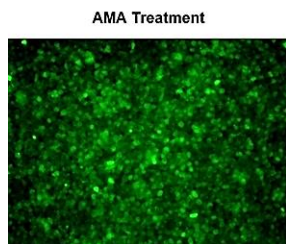
使用Cell Meter™ Fluorimetric Intracellular Total ROS Activity Assay Kit (#22903) 染色 HeLa 細胞



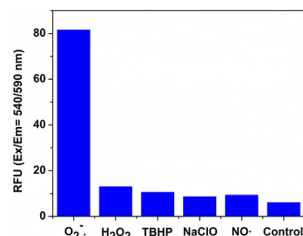
使用 #22903 偵測 HeLa 細胞中的 ROS



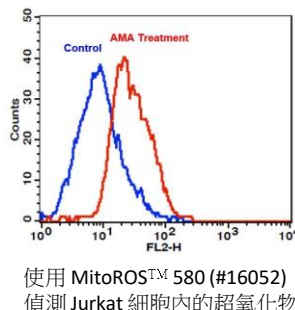
使用 #22903 偵測 Jurkat 細胞中的ROS



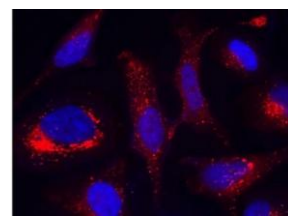
使用 Cell Meter™ Fluorimetric Mitochondrial Superoxide Activity Assay Kit (t#16060) 以螢光觀察巨噬細胞中的 ROS



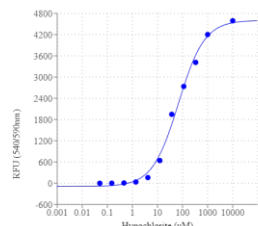
使用 MitoROS™ 580 (10 μm #16052) 偵測不同的活性氧物質 (ROS) 及活性氮物質 (RNS)，可特異性的偵測 O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>



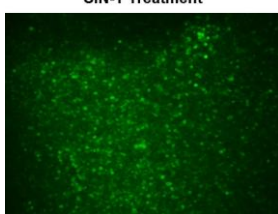
使用 MitoROS™ 580 (#16052) 偵測 Jurkat 細胞內的超氧化物



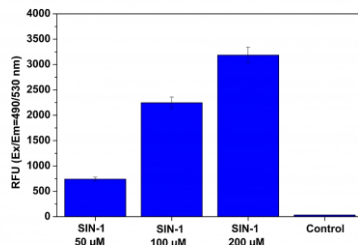
使用 Cell Meter™ Mitochondrial Hydroxyl Radical Detection Kit (Cat#16055)，以螢光觀察 HeLa 細胞中的 Hydroxyl radical



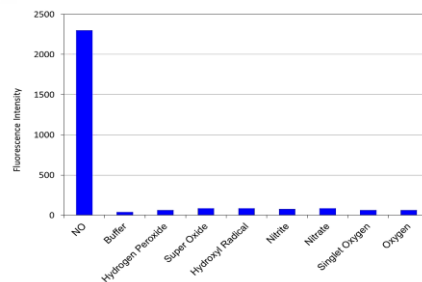
使用 Amplitude® Fluorimetric Hypochlorite/Hypochlorous Acid Assay Kit 偵測次氯酸



使用 Cell Meter™ Fluorimetric Intracellular Peroxynitrite Assay Kit (#16315) 以螢光觀察 RAW 264.7 內的 ROS (過氧亞硝基陰離子)



以 SIN-1 處理後，使用 #16315 偵測活細胞中的 ROS (過氧亞硝基陰離子)



使用 DAX-J2™ Red (#16301, 2 μM) 偵測對不同活性氧物質 (ROS, 1 mM) 的反應

## ➤ 其他分析試劑組

| 偵測目標                         | 使用樣品                                          | 品名 (探針名稱)                                                                    | Ex/Em   | 貨號          | 包裝        |
|------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|---------|-------------|-----------|
| SOD (Superoxide dismutase)   | Cell lysate; biological solution              | Colorimetric Superoxide Dismutase (SOD) Assay Kit                            | 560/ -  | 11305       | 200 tests |
|                              |                                               | Colorimetric Superoxide Dismutase (SOD) Assay Kit                            | 440/ -  | 11308       | 200 tests |
| Catalase                     | Cell lysate; biological solution              | Catalase (CAT) Activity Assay Kit                                            | 405/ -  | E-BC-K031-M | 96 tests  |
|                              |                                               | Amplitude® Fluorimetric Catalase Assay Kit                                   | 571/584 | 11306       | 200 tests |
| GSH Glutathione              | Live cells                                    | Intracellular GSH Assay Kit (for flow)                                       | 505/524 | 22810       | 100 tests |
|                              | Cell lysate; biological solution              | Amplitude® Fluorimetric Glutathione Assay Kit                                | 490/525 | 10055       | 200 tests |
|                              |                                               | Amplitude® Fluorimetric Glutathione GSH/GSSG Ratio Assay Kit                 | 490/520 | 10056       | 200 tests |
|                              |                                               | Reduced Glutathione (GSH) Colorimetric Assay Kit                             | 405/ -  | E-BC-K030-M | 96 tests  |
|                              | Serum, plasma, tissue homogenate, cell lysate | Total Glutathione (T-GSH)/Oxidized Glutathione (GSSG) Colorimetric Assay Kit | 412/ -  | E-BC-K097-M | 96 tests  |
| GPx (Glutathione peroxidase) | Cell lysate; biological solution              | Glutathione Peroxidase (GSH-Px) Activity Assay Kit                           | 412/ -  | E-BC-K096-M | 96 tests  |
|                              |                                               | Amplitude® Fluorimetric Glutathione Peroxidase Assay Kit                     | 420/480 | 11560       | 200 tests |
| GR (Glutathione Reductase)   | Serum, plasma, tissue homogenate, cell lysate | Glutathione Reductase (GR) Activity Assay Kit                                | 340/ -  | E-BC-K099-M | 96 tests  |
| Ascorbate                    | Cell lysate; biological solution              | Amplitude® Fluorimetric Ascorbic Acid Assay Kit                              | 340/430 | 13835       | 200 tests |
| NAD <sup>+</sup> /NADH       | Cell lysate; biological solution              | Amplitude® Colorimetric NAD/NADH Ratio Assay Kit                             | 460/ -  | 15273       | 250 tests |
|                              |                                               | Amplitude® Fluorimetric NAD/NADH Ratio Assay Kit                             | 540/590 | 15263       | 250 tests |
| NADH                         | Cell lysate; biological solution              | Amplitude® Colorimetric NADH and NADPH Assay Kit                             | 460/ -  | 15272       | 400 tests |
|                              |                                               | Amplitude® Fluorimetric NADPH Assay Kit                                      | 540/590 | 15262       | 400 tests |

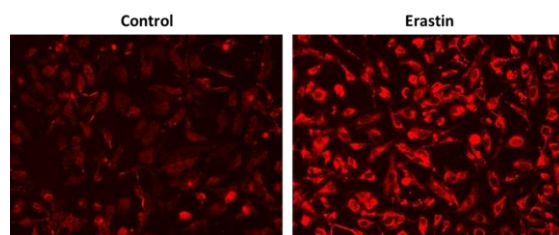
## ■ 粒線體脂質過氧化 (Lipid peroxidation)

### OxiVision™ Red Mitochondrial Lipid Peroxidation Sensor #21510 (5 x100 μg)

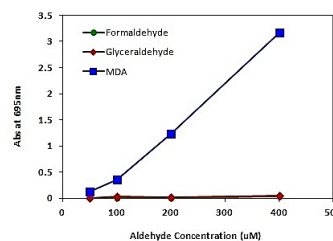
- 為針對粒線體的螢光探針，檢測脂質過氧化
- 可檢測活細胞，用於活細胞影像
- 與常見的 Cy3/TRITC 濾光片組相容
- 使用螢光光譜儀、螢光顯微鏡或螢光分析儀檢測
- 可與其他染劑 或 螢光 (如 DAPI 或 GFP) 共染

### Cell Meter™ Intracellular Colorimetric Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit #15991 (200 Tests)

- 反應快速且方便，無需 TBARS 加熱步驟
- 產物為藍色，可於 695 nm 使用可見光 ELISA reader 偵測
- 專一性高，僅針對 MDA，幾乎不受其他醛類干擾



以 Erastin (10 μM) 處理 HeLa 細胞後，以 OxiVision™ Red Mitochondrial Lipid Peroxidation Sensor (#21510) 觀察螢光



使用 MDA assay kit (#15991) 偵測 MDA, formaldehyde 及 glyceraldehyde 的訊號

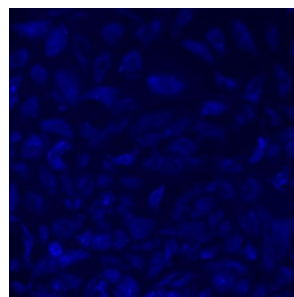
## ■ 偵測粒線體DNA (mtDNA) – MitoDNA™ 粒線體DNA標定染劑

粒線體 DNA (mtDNA) 是在細胞質的粒線體內發現的小型環狀 DNA。粒線體 DNA 疾病及基因突變可能導致健康問題，如與年齡有關的聽力損失、糖尿病以及腦部、心臟和肝衰竭等。此外，粒線體 DNA 及其相關的粒線體疾病可使人易罹患不同類型的癌症，包括淋巴瘤、白血病以及乳癌、腸癌、肝癌和腎癌等。目前能夠有效檢測粒線體 DNA 的探針非常少。常見的螢光 DNA 探針 (如 DAPI、Hoechst 或 SYBR® Green) 缺乏針對粒線體的特異性，主要是染色細胞核；而 MitoDNA™ 染劑可專門染活細胞中的粒線體 DNA。

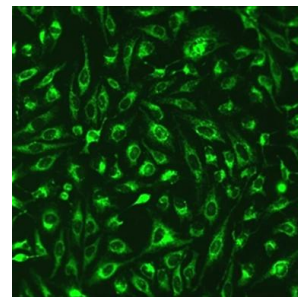
### MitoDNA™ 特色

- 細胞通透性強
- 專一性高：可專一的染到粒線體 DNA
- 斯托克斯位移 (Stokes shifts) 大：吸收光譜與散發光譜間距大，不容易發生螢光自淬現象 (Self-quenching)
- 螢光訊號強：訊號雜訊比 (S/N ratio) 高
- 應用廣：適用於與其他螢光探針進行多重分析

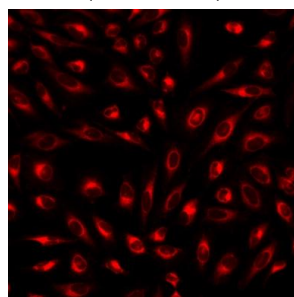
| 品名                 | 貨號    | 包裝  | Ex/Em   |
|--------------------|-------|-----|---------|
| MitoDNA™ Blue 470  | 22684 | 1mg | 344/469 |
| MitoDNA™ Green 530 | 22685 | 1mg | 421/526 |
| MitoDNA™ Red 610   | 22687 | 1mg | 508/607 |
| MitoDNA™ Red 680   | 22688 | 1mg | 597/681 |
| MitoDNA™ Red 710   | 22689 | 1mg | 511/707 |



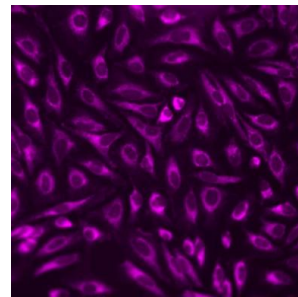
MitoDNA™ Blue 470  
(Cat No. 22684)



MitoDNA™ Green 530  
(Cat No. 22685)



MitoDNA™ Red 680  
(Cat No. 22688)



MitoDNA™ Red 710  
(Cat No. 22689)

## ■ 粒線體相關抑制劑 (inhibitors)

| 品名          | 貨號                   | 作用機制                                                                                                                                                                    |
|-------------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Apoptolidin | HY-126679            | Apoptolidin 是一種從擬諾卡氏菌 ( <i>Nocardiosis bacteria</i> ) 分離出來的聚酮化合物 (polyketide)，為一種選擇性的粒線體 $F_1F_0$ -ATPase 抑制劑                                                           |
| Erastin     | HY-15763<br>CFN60178 | Erastin 是一種鐵死亡 (ferroptosis) 誘導，其誘導機制與活性氧 (ROS) 和鐵依賴性的訊號傳導相關。Erastin 可抑制電壓依賴性的陰離子通道 (VDAC2/VDAC3) 並加速氧化，導致內生性活性氧 (ROS) 的累積。Erastin 也能破壞粒線體通透性轉換孔 (mPTP)。                |
| FCCP        | HY-100410            | 全名為 Carbonyl cyanide 4-(trifluoromethoxy)phenylhydrazone，是粒線體中氧化磷酸化 (OXPHOS) 的解偶聯劑 (uncoupler)，可誘導 PINK1 活化而導致 Parkin Ser65 的磷酸化。                                       |
| Mdivi-1     | HY-15886<br>CFN60325 | Mitochondrial division inhibitor 1，為粒線體分裂/粒線體自噬的抑制劑，是 dynamin-related protein 1 (Drp1) 一種選擇性的抑制劑。                                                                       |
| Rotenone    | HY-B1756<br>CFN98590 | Rotenone 為粒線體電子傳遞鏈複合物 I (electron transport chain complex I) 的抑制劑，可透過增強粒線體活性氧的產生來誘導細胞凋亡 (apoptosis)。                                                                    |
| Salidroside | HY-N0109<br>CFN99177 | Salidroside 別名為 Rhodiolside，是一種 prolyl endopeptidase 的抑制劑，會藉由活化 mTOR 的訊號傳遞，減輕癌症惡病質小鼠模型中的惡病質症狀。Salidroside 經由增加 PINK1/Parkin 介導的粒線體自噬，來保護多巴胺能神經元 (dopaminergic neurons)。 |
| Urolithin A | HY-100599            | Urolithin A 是鞣花酸在腸道的微生物代謝物，具有抗發炎、抗增生及抗氧化作用。Urolithin A 會誘導細胞自噬 (autophagy) 和細胞凋亡 (apoptosis)，抑制細胞週期的進程，並抑制 DNA 合成。                                                      |

## ■ 螢光相關耗材 - 96 孔微量孔盤

進行螢光實驗時，建議使用黑盤，不透光的黑盤可減少自體螢光造成的背景值，減少孔與孔之間的干擾，並通過減少“光散射”而提高靈敏度。對於需定量測定生物發光或化學發光實驗 (如冷光實驗) 而言，不透明的白盤則可快速反射或持續化學反應出的光，從而提高測定的靈敏度。

| 種類               | 貨號          | 型式             | 表面處理       | 滅菌 | 蓋子 | 包裝 (個/箱) |
|------------------|-------------|----------------|------------|----|----|----------|
| 細胞培養             | TCP-019-096 | 全黑盤            | TC treated | 有  | 有  | 1/100    |
|                  | TCP-017-096 | 全白盤            | TC treated | 有  | 有  | 1/100    |
| 不透明<br>微量<br>多孔盤 | LTP-010-896 | 配可拆式白色<br>8 孔條 | 無          | 無  | 無  | 10/200   |
|                  | LTP-021-896 | 配可拆式黑色<br>8 孔條 | 無          | 無  | 無  | 10/200   |

