

CytoDet JC-1线粒体膜电位检测试剂盒

CytoDet JC-1 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit

Code No. AG51009

包装量: 100 rxns
保存温度: -20°C

▶ 产品概述

本产品是基于 JC-1 荧光探针的能快速灵敏地检测细胞线粒体膜电位变化的试剂盒，可以用于早期细胞凋亡的检测。

JC-1 是一种广泛应用于检测线粒体膜电位 $\Delta\psi_m$ 的荧光探针，以电势依赖性的方式聚集在线粒体内。在正常线粒体中，线粒体膜电位较高，JC-1 聚集在线粒体基质中形成聚合物，发出强烈的红色荧光；在不健康的线粒体中，由于线粒体膜电位的下降或丧失，JC-1 以单体形式存在于胞浆中，产生绿色荧光。因此可使用荧光显微镜或流式细胞仪检测 JC-1 荧光的发射波长变化，反映线粒体膜电位的变化。由于 JC-1 的水溶性较差，而 JC-10 具有更好的水溶性，当需要使用高浓度染料进行实验时，可使用本公司另一款产品 *CytoDet* JC-10 线粒体膜电位检测试剂盒 (Code No. AG51010)。

CCCP (Carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone) 是一种强效的线粒体氧化磷酸化解偶联剂，促使线粒体内膜对 H^+ 产生通透性，导致线粒体的膜电位丧失。本产品提供了 CCCP 作为诱导线粒体膜电位下降的阳性对照。

▶ 保存及运输

保存温度: -20°C 避光保存
运输温度: -20°C 冰袋运输

▶ 产品组成

JC-1 (200 μ M) *	200 μ l X 5 pcs
CCCP (50 mM)	50 μ l

*: 在低温情况下会凝固，可能会析出产生沉淀，如果出现沉淀，可以在 20~25°C 水浴温育使其全部溶解。

▶ 实验操作

A. 悬浮细胞

- 取 1~10X10⁵ 个细胞，重悬于 1 ml 细胞培养液中（血清和酚红对实验无影响）。
- 加入 10 μ l JC-1 (200 μ M)，终浓度为 2 μ M，加入时均匀缓慢的滴加到细胞培养液中，并用移液器轻轻吹打混匀（一定要使 JC-1 完全溶解），然后将细胞放置于培养箱中 37°C 孵育 30 min。
【注：不同细胞的染色效果不一样，可以根据实际情况进行调整 JC-1 反应终浓度，但 JC-1 终浓度过高可能会析出形成聚集颗粒。】
【**可选步骤**】如果背景较高，可以在染色完成之后，使用预冷的 PBS 洗涤细胞一次：400 xg 4°C 离心 5 min，去除培养基；然后加入 1 ml PBS 重悬细胞，400 xg 4°C 离心 5 min，沉淀细胞，弃上清，再用 1 ml PBS 重悬细胞后进行检测。
- 用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察，也可以使用流式细胞仪分析。

B. 贴壁细胞（以6孔板为例）

对于贴壁细胞，如果要采用流式细胞仪分析或荧光分光光度计检测，可以先消化收集细胞，重悬后参考 < A. 悬浮细胞 > 的检测方法。如果采用荧光显微镜拍照观察，则可直接参照下述步骤进行。

1. 配制 JC-1 染色工作液：使用细胞培养基将 JC-1 (200 μM) 稀释成终浓度为 2 μM 的染色工作液，剧烈振荡使其充分溶解混匀。

【注：不同细胞的染色效果不一样，可以根据实际情况调整 JC-1 反应终浓度；但 JC-1 终浓度过高可能会析出形成聚集颗粒。】

2. 将细胞中的培养基去除（根据需要可使用 PBS 清洗细胞一次，并去除 PBS），取 1 ml JC-1 染色工作液直接加入细胞中，轻轻晃动孔板使染色液完全覆盖细胞（此处以 6 孔板为例，其余孔板根据大小进行调整，例如 12 孔板加入 0.5 ml，24 孔板加入 0.25 ml），然后将细胞放置于培养箱中 37°C 孵育 30 min。

【可选步骤】如果背景较高，可以在染色完成之后，使用预冷的 PBS 洗涤细胞一次：去除培养基，加入 1 ml PBS 覆盖细胞，轻轻晃动培养皿，然后去除 PBS，再加入 1 ml PBS 后进行检测。

3. 用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察。

C. 结果分析

检测 JC-1 单体时可以把激发光设置为 490 nm，发射光设置为 530 nm；检测 JC-1 聚合物时可以把激发光设置为 525 nm，发射光设置为 590 nm。

- ◆ 当使用荧光显微镜观察时，凋亡或坏死细胞可以用蓝色激发光进行激发，活细胞可以用绿色荧光进行激发。
- ◆ 当使用流式细胞仪检测时，可选用 488 nm 进行激发，使用检测 FITC（绿色）的通道检测凋亡或坏死细胞，使用检测 PE（红色）的通道检测活细胞。

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.