

CytoDet JC-10线粒体膜电位检测试剂盒

CytoDet JC-10 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit

Code No. AG51010

包装量:	100 rxns
保存温度:	-20°C

产品概述

本产品是基于 JC-10 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-10 是一种水溶性好，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-10 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-10 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-10 荧光的发射波长变化，反映线粒体膜电位的变化。

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-10 (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 $1-10 \times 10^5$ 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-10 (200 μ M)，终浓度为 2 μ M，加入时均匀缓慢的滴加入到细胞中，并用移液器轻轻吹打混匀，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-10 反应终浓度。】
【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, 则直接参照下述步骤进行。

1. 配制 JC-10 染色工作液: 使用细胞培养基将 JC-10 (200 μ M) 稀释成终浓度为 2 μ M 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-10 反应终浓度。】

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-10 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-10 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-10 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.