

## JC-1线粒体膜电位检测试剂盒

## 说明书

名称	JC-1线粒体膜电位检测试剂盒
货号	CSP059
保存	JC-1 (200X)母液-20℃避光保存，避免反复冻融。 JC-1缓冲稀释液4℃保存，2周内有效。
用途	仅供科研使用

产品编号	产品名称	产品包装
CSP059-20	线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)	>20次
CSP059-50	线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)	>50次
CSP059-100	线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)	>100次

## 【产品描述】

线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)是利用 JC-1 作为膜电位识别的荧光探针，能够快速灵敏地检测细胞、组织或纯化的线粒体膜电位变化，用于早期的细胞凋亡检测。

JC-1 是一种广泛用于检测线粒体膜电位 $\Delta\Psi_m$ 的理想荧光探针。可以检测细胞、组织或纯化的线粒体膜电位。其检测原理为：当 JC-1 进入细胞后，正常细胞中线粒体膜电位较高，在此条件下 JC-1 会聚集在线粒体的基质中，形成聚合物，进而产生红色荧光；当线粒体膜电位较低时，JC-1 不能聚集在线粒体的基质中，此时 JC-1 以单体存在，产生绿色荧光。实际使用过程中，我们通常通过比较红绿荧光的相对比例来衡量线粒体去极化的程度，方便地通过荧光颜色的转变来检测线粒体膜电位的变化。

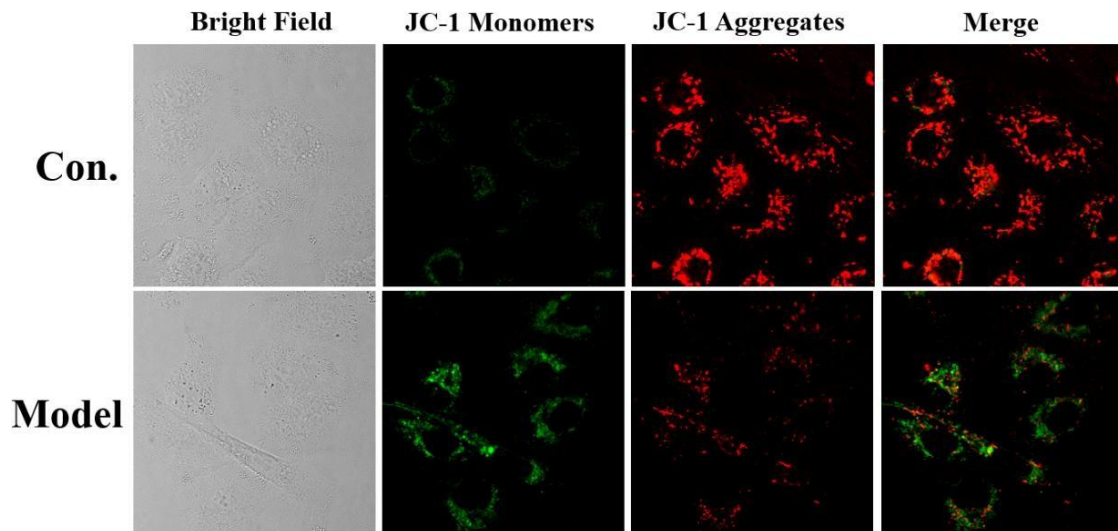
众所周知，线粒体膜电位的下降是细胞凋亡早期的标志性事件。通过 JC-1 从红色荧光到绿色荧光的转变，可以很快速地捕捉到细胞膜电位的下降；同时红色到绿色荧光的转变，也可以作为细胞凋亡早期的一个检测指标。

JC-1 单体的最大激发波长为 515nm，最大发射波长为 529nm；JC-1 聚合物的最大激发波长为 585nm，最大发射波长为 590nm。观察时，使用常规的观察红色荧光和绿色荧光的设置即可。

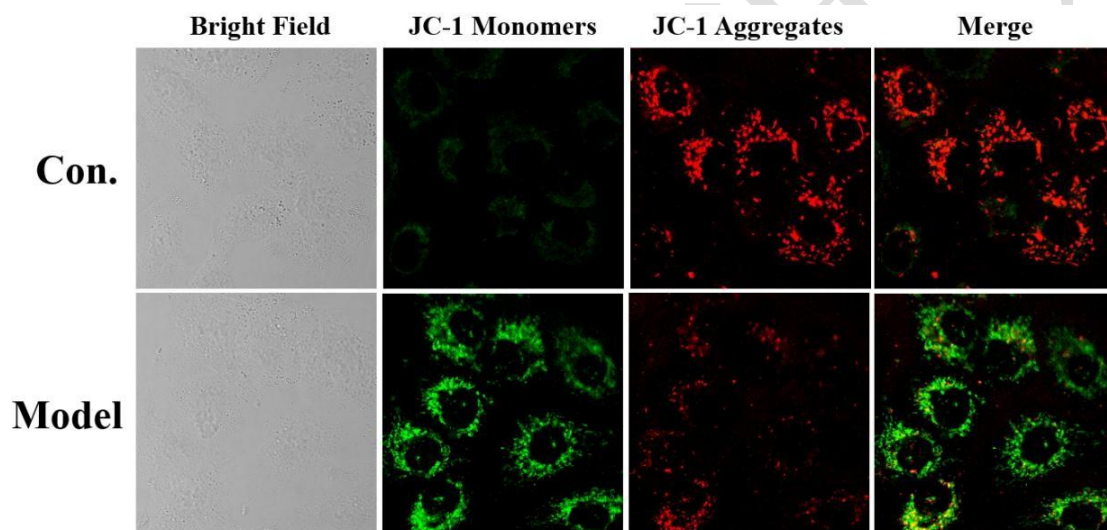
本试剂盒提供 CCCP 作为诱导线粒体膜电位下降的阳性对照。

## 同类进口品牌比较结果

市场同类产品:



本产品实验结果:



使用本试剂盒检测 A549 细胞在正常和造模前后的线粒体膜电位的效果图。正常 A549 细胞经 JC-1 染色后以聚合物形式存在，呈明亮的红色荧光，绿色荧光很弱；使用 CCCP (10 $\mu$  M) 诱导使线粒体膜电位下降后，JC-1 以单体存在形式居多，因此线粒体内红色荧光强度显著降低，而绿色荧光显著增强。

### 【使用说明】（仅供参考）

#### 1. JC-1染色工作液的配制：

取适量JC-1 (200X)，按照每5 $\mu$ l +995  $\mu$ l JC-1缓冲稀释液（1X）的比例稀释至1X JC-1染色工作液。

**注：**试剂盒标配JC-1缓冲稀释液为10X，使用前用三蒸水稀释至1X使用，配置前应于37 $^{\circ}$ C水浴至室温后方可使用，以免稀释液过冷染色过程对细胞有刺激影响实验结果，稀释时将JC-1缓冲稀释液（1X）

快速加入到200X的JC-1母液中稀释效果更佳。一般建议6孔板每孔使用JC-1染色工作液量为1ml，其它培养器皿用量以此类推。对于细胞悬液每 $5-10 \times 10^6$ 细胞加0.5ml JC-1染色工作液（1X）。

## 2. 阳性对照组：

该试剂盒包含阳性对照CCCP（10 mM），CCCP可以诱导细胞线粒体膜电位变化。使用方法：用细胞培养液配制CCCP，推荐终浓度为10  $\mu$ M，对于不同细胞CCCP浓度可自行调整。正常条件下，10  $\mu$ M CCCP处理20分钟后线粒体的膜电位会明显改变，此时，JC-1染色后可观察到明显的绿色荧光；相反，正常的细胞经JC-1染色后显示红色荧光。

## 3. 悬浮细胞处置：

- a) 取 $5-10 \times 10^6$ 细胞，用0.5 ml 细胞培养液重悬细胞。
- b) 加入0.5 ml JC-1染色工作液，颠倒数次混匀。置于细胞培养箱中37 $^{\circ}$ C 孵育20-30分钟；不同细胞根据实验可自行调整染色时间。
- b) 孵育结束后，700g 4 $^{\circ}$ C离心，收取沉淀细胞。
- c) 用JC-1 缓冲稀释液（1X）洗涤2-3次：加入1 ml JC-1 染色工作液重悬细胞，随后用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察，也可用流式细胞仪分析。

## 4. 贴壁细胞处置：

- a) 6孔板贴壁细胞处理过程如下：首先，弃培养液，用常温PBS或培养液轻洗细胞2次，加入1 ml新鲜细胞培养液。阳性对照组中加入CCCP（终浓度10  $\mu$ M）提前置于孵箱中处理20-30分钟；
- b) 随后，加入1 ml JC-1染色工作液，充分混匀。置于培养箱中37 $^{\circ}$ C 孵育30-60分钟不等（可根据实验情况调整）。
- d) 孵育结束后，弃上清，用JC-1 缓冲稀释液（1X）洗涤细胞2次。
- e) 加入1 ml 细胞培养液，于荧光显微镜或激光共聚焦显微镜下观察。

## 5. 纯化的线粒体：

- a) 1 ml染色体系包含：0.9 ml JC-1染色工作液+0.1 ml纯化的线粒体(10-100 $\mu$ g)；置于37 $^{\circ}$ C 孵育20-30分钟，期间可上下颠倒孵育液，使染色更加均一旦充分。
- b) 孵育结束后，可用荧光分光光度计或荧光酶标仪检测：荧光分光光度计检测：激发波长为485 nm，发射波长为590 nm。荧光酶标仪检测时，激发波长可在475-520 nm范围内设置。具体可参考步骤6中的条件进行荧光检测。
- c) 用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察：方法同步骤6。

## 6. 荧光检测与数据分析：

JC-1单体的激发波为490 nm，发射光波长为530 nm；JC-1聚合物，激发波长为525 nm，发射波长为590 nm。实际测试过程中，可依据实验室仪器的相关参数进行设置，不必把激发和发射波长设置在最大激发波长和最大发射波长。荧光显微镜或共聚焦观察时，JC-1单体的检测可参照其它绿色荧光时的设置，如GFP或FITC通道；同理，JC-1聚合物的检测时可以参考其它红色荧光，如碘化丙啶或Cy3的设置。因此，出现绿色荧光说明线粒体膜电位下降，可以通过比较红绿荧光的相对比例衡量线粒体膜电位的变化。

## 【注意事项】

- 1、JC-1 (200X)母液使用时需等待完全溶解后使用。
- 2、JC-1缓冲稀释液使用时须0.2 $\mu$ m滤膜进行无菌处理，以防微生物污染影响染色效果。
- 3、洗涤时也可以用Hanks' Balanced Salt Solution、PBS等替代JC-1缓冲稀释液。

中乔新舟