



JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒

产品描述

线粒体膜电位降低是细胞早期凋亡的一个标志, 它发生在细胞膜上的磷脂酰丝氨酸外翻与 Caspase 水解酶激活之前。当线粒体膜通透性发生改变时, 膜电位会降低。这种膜电位的改变是由于 Bax 二聚体的形成和 Bid, Bak, Bad 的激活, 从而诱导线粒体膜形成孔隙造成的。当这些促凋亡蛋白被激活时, 线粒体同时也将细胞色素 C 释放到细胞质中。

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, 它可以检测细胞、组织或纯化的线粒体膜电位。在线粒体膜电位较高时, JC-1 聚集在线粒体的基质中, 形成聚合物, 产生红色荧光; 在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 为单体, 可以产生绿色荧光。通过 JC-1 从红色荧光到绿色荧光的转变可以很容易地检测到膜电位的下降, 同时也可以利用 JC-1 从红色荧光到绿色荧光的转变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 510 nm, 最大发射波长为 527 nm; JC-1 聚合物的最大激发波长为 585 nm, 最大发射波长为 590 nm。这款试剂盒操作简单快速, 可以通过流式细胞仪, 荧光显微镜或荧光酶标仪检测。

订购信息

产品名称	货号	规格
JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒	AC12L072	20T
JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒	AC12L073	100T

产品组分

组分	AC12L072 (20T)	AC12L073 (100T)
A. JC-1, 100× in DMSO	100μL	500μL
B. 10× Assay Buffer	2 x 1mL	10mL
C. CCCP, 50 mM	10μL	50μL

运输与保存

蓝冰运输。-20°C 避光保存, 有效期 36 个月。【注】: B 组份也可以放 4°C 保存; 为避免反复冻融, A 与 C 组分建议分装。

光谱特性

Ex/Em: 510/527 nm (单体物, 绿色) 585/590 nm (聚合物, 红色)

使用方法

1. 试剂准备:

配制 JC-1 工作液

按如下方案配置 1mL 1×JC-1 染色工作液: 取 10 μL 100×JC-1 染色液, 加入到 890 μL 灭菌的 diH₂O 中, 涡旋混匀, 向上述混合液中加入 100 μL 10× Assay Buffer, 涡旋混匀, 即可得到 1×JC-1 染色液。【注】: ① 配置体积可同比例扩大或缩小。② 不建议直接用 1×Assay Buffer 稀释 100×JC-1 染色液, 可能会出现沉淀。

配制 1× Assay Buffer

用 diH₂O 按 10: 1 稀释检测缓冲液 (如 1 mL 10× assay buffer + 9 mL diH₂O)。

2. 流式细胞染色方案:

细胞染色

开始实验之前, 请确保 JC-1 和 CCCP 溶液已恢复至室温。

(1) 按实验所需, 在培养板中接种细胞 (悬浮细胞不要超过 10⁶ 个/mL)。



- (2) 阳性对照组: 根据培养基的量加入相应体积 50 mM 的 CCCP 溶液 (如终浓度为 50 μ M 即 1 mL 培养基加入 1 μ L 50 mM 的 CCCP 溶液), 37°C 孵育 20 min。对于特定的细胞, CCCP 的作用浓度和作用时间可能有所不同, 需自行参考相关文献资料确定。
- (3) 对于贴壁细胞, 染色前先进进行消化处理, 将其制成细胞悬液, 0.5 mL 装于离心管中。
- (4) 室温下 400 x g, 离心 5 min。
- (5) 除去上清。
- (6) 用 0.5 mL 的 JC-1 工作液重悬细胞。
- (7) 置于 37°C 细胞培养箱, 孵育 15 min。
- (8) 室温下 400 x g, 离心 5 min, 去除上清。
- (9) 用 2 mL 的 PBS 缓冲液、培养基或 1 \times Assay Buffer 重悬细胞, 离心去除上清, 重复一次。
- (10) 用 0.5 mL 的 PBS、培养基或 1 \times Assay Buffer 重悬细胞, 用流式细胞仪检测分析。

流式细胞仪定量分析

对于正常细胞, 在 PE 或 PI (FL2) 通道可以检测到线粒体内的 JC-1 红色聚集物; 对于凋亡细胞, 在 FITC (FL1) 通道可以检测到 JC-1 绿色单体物。

3. 荧光显微镜染色方案:

悬浮细胞染色

- (1) 参照流式细胞仪染色方案, 对细胞进行染色。
- (2) 用 0.3 mL 的 PBS 或培养基重悬细胞。

贴壁细胞染色

- (1) 在培养皿或培养板上接种细胞。
- (2) 阳性对照组: 根据培养基的量加入相应体积 50 mM 的 CCCP 溶液 (如终浓度为 50 μ M 即 1 mL 培养基加入 1 μ L 50 mM 的 CCCP 溶液), 37°C 孵育 20 min。对于特定的细胞, CCCP 的作用浓度和作用时间可能有所不同, 需自行参考相关文献资料确定。
- (3) 去除培养基, 加入 JC-1 工作液使其覆盖细胞表面。
- (4) 置于 37°C 细胞培养箱, 孵育 15 min。
- (5) 除去染液, 用 PBS 缓冲液、培养基或 1 \times Assay Buffer 清洗一次细胞。
- (6) 用荧光显微镜观察分析。

荧光显微镜成像

采用可以同时检测荧光素和罗丹明, 或者荧光素与 Texas Red 的双通道滤波器荧光显微镜观察细胞。对于正常细胞, 拥有完整的线粒体膜电位, 线粒体在 590 nm 处发出红色荧光, 细胞质发出绿色荧光; 对于凋亡或坏死的细胞, 染料以单体形式存在, 在 530 nm 处发出绿色荧光。

4. 测定荧光相对比率染色方案:

- (1) 按照实验要求在 96 孔板中接种细胞。
- (2) 阳性对照组: 根据培养基的量加入相应体积 50 mM 的 CCCP 溶液 (如终浓度为 50 μ M 即 1 mL 培养基加入 1 μ L 50 mM 的 CCCP 溶液), 37°C 孵育 20 min。对于特定的细胞, CCCP 的作用浓度和作用时间可能有所不同, 需自行参考相关文献资料确定。
- (3) 根据荧光显微镜细胞染色方案对细胞进行染色处理。
- (4) 用荧光酶标仪检测荧光值 (红色荧光: Ex/Em=550/600 nm; 绿色荧光 Ex/Em=485/535 nm)。
- (5) 计算红绿荧光比值。
- (6) 与正常细胞相比, 在凋亡或坏死细胞中, 红绿荧光比值会降低。

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。