

## JC-1 (Powder) 线粒体膜电位荧光探针 (粉末)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS3203-1mg	JC-1 (Powder) 线粒体膜电位荧光探针	1mg
NBS3203-5mg	JC-1 (Powder) 线粒体膜电位荧光探针	5mg
NBS3203-10mg	JC-1 (Powder) 线粒体膜电位荧光探针	10mg

### 产品简介:

JC-1 是一种广泛用于检测线粒体膜电 $\Delta\Psi_m$ 位的理想荧光探针。JC-1 染料以电势依赖性的方式积聚在线粒体内, 可以用来检测细胞、组织或纯化的线粒体膜电位。正常线粒体内, JC-1 聚集在线粒体基质中形成聚合物, 聚合物发出强烈的红色荧光 (Ex=585 nm, Em=590 nm); 不健康的线粒体由于膜电位的下降或丧失, JC-1 只能以单体的形式存在于胞浆中, 产生绿色荧光 (Ex=514 nm, Em=529 nm)。

JC-1 不仅可用于定性检测, 因颜色的变化可以非常直接的反映出线粒体膜电位的变化。也可以用于定量检测, 因线粒体的去极化程度可以通过红/绿荧光强度的比例来衡量。观察时, 只需使用常规的观察红色荧光和绿色荧光的设置即可。

本品以冻干粉形式提供, CAS NO.3520-43-2, 细胞培养级。用于检测细胞的线粒体膜电位时常用的浓度范围为 1 ~ 20  $\mu\text{g/ml}$ , 对于很多细胞适宜采用的工作浓度为 10  $\mu\text{g/ml}$ 。

### 产品特性

- 1) CAS NO: 3520-43-2
- 2) 化学名: 5,5',6,6' -Tetrachloro-1,1',3,3' -tetraethylbenzimidazolylcarbocyanine iodide
- 3) 分子式:  $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{Cl}_4\text{IN}_4$

- 4) 分子量: 652.23 g/mol
- 5) 纯度: > 95% (HPLC)
- 6) 外观: 红褐色粉末
- 7) 溶解性: 溶于 DMSO、DMF, 几乎不溶于水
- 8) Ex/Em: 单体形式 (monomer form): Ex=514 nm, Em=529 nm;  
聚合物形式 (J-aggregate form): Ex=585 nm, Em=590 nm;

### 保存条件:

-20°C干燥避光保存, 2 年有效。

### 产品使用:

#### 1. 染色工作液制备

1) JC-1 储存液制备: 将 JC-1 粉末室温回温 20min 左右, 直接加 1ml 无水 DMSO 到 5mg 粉末, 颠倒混匀, 使其充分溶解后, 即得到 5mg/ml 的储存液。溶液单次用量分装存于-20°C, 避光干燥且避免反复冻融。

2) JC-1 工作液制备: 将冻存的储存液置于室温充分融化, 之后用缓冲液或者预热的培养基直接稀释储存液 (5 mg/ml) 到需要的工作浓度, 边震荡边稀释, 充分混匀。为了去除任何不溶颗粒, 建议 13,000 x g 离心工作液 1 min, 小心吸取上清转移到新的管子内。整个过程要避光操作。

【注意】: 因 JC-1 不溶于水, 很可能在稀释到工作液的过程中形成聚集颗粒, 建议细胞染色前用离心或者过滤的方法去除这些颗粒后再使用。

#### 2. JC-1 染色步骤 (流式细胞仪)

1) 于 6-, 12 或 24-孔板上进行细胞铺板, 调整密度为  $5 \times 10^5$  cells/ml。37°C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养过夜。选择合适的化合物根据特定的步骤进行凋亡诱导。【注意】: 进行凋亡诱导时的细胞密度建议不超过  $1 \times 10^6$  cells/ml, 也可根据自己的细胞类型培养至合适的密度。

2) 取 0.5 ml 细胞悬液至无菌的离心管内;

3) 室温条件 400 x g 离心 5 min; 吸掉上清。

4) 用 0.5 ml JC-1 工作液重悬细胞, 于 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱孵育 15-30 min; 【注意】: 一般情况, 15 min 足以进行充分的染色。

- 5) 室温条件 400 x g 离心 5 min; 吸掉上清;
- 6) 用 2 ml 细胞培养液或者缓冲液重悬细胞, 之后室温条件 400 x g 离心 5 min; 吸掉上清;
- 7) 重复步骤 6);
- 8) 用 0.5 ml 新鲜培养液或者缓冲液重悬细胞, 即可进行后续的流式分析。【注意】: 请马上进行流式定量分析, 此细节很重要。

**数据分析:** 含有红色 JC-1 聚集物的健康细胞线粒体用 FL2 通道检测; 含有绿色 JC-1 单体的凋亡或不健康细胞用 FL1 (FITC) 通道检测。

### 3. JC-1 染色步骤 (荧光显微镜)

#### A、悬浮细胞

- 1) -6) 同上 JC-1 染色步骤 (流式细胞仪);
- 7) 用 0.3 ml 缓冲液重悬细胞, 即可进行荧光显微镜检测。【注意】: 请马上进行荧光显微分析, 此细节重要。

#### 数据分析:

使用可同时检测 FITC/TRITC 或者 FITC/Texas Red™ 的双带带通滤波器进行检测。健康细胞因 JC-1 聚集后线粒体呈红色, 最大发射波长为 590 nm。而凋亡/坏死细胞内的 JC-1 以单体形式存在, 线粒体呈绿色, 最大发射波长为 530 nm。

#### B、贴壁细胞

- 1) 培养皿内用盖玻片进行细胞爬片或者细胞培养在腔室玻片 (chamber slide) 上。选择合适的化合物根据特定的步骤进行凋亡诱导。
- 2) 染色前开始配制 JC-1 工作液, 配制步骤见上。
- 3) 吸掉细胞培养液, 然后加入足够覆盖所有细胞的 JC-1 工作液。于 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱孵育 15-30 min; 【注意】: 一般情况, 15 min 足以进行充分的染色。
- 4) 吸掉培养液, 然后用合适的缓冲液清洗细胞 2 次。
- 5) 加入 2ml 细胞培养液 (培养液可含血清和酚红) 或者 PBS 缓冲液, 于荧光显微镜或者共聚焦显微镜下观察。数据分析同 A. 悬浮细胞。

### 4. JC-1 染色步骤 (荧光酶标仪)

- 1) -7) 同上 JC-1 染色步骤 (流式细胞仪);
- 8) 用 0.3 ml 缓冲液重悬细胞; 然后按照每孔 0.1 ml 的量将染色好的细胞转移到黑色的 96

孔板内，即可进行荧光酶标板分析。【注意】：请马上进行荧光显微分析，此细节重要。

### 数据分析：

健康细胞，JC-1 单体聚集形成聚合物，线粒体呈现强烈的红色荧光（激发波长 550 nm，发射波长 600 nm）。而凋亡或坏死细胞内 JC-1 以单体形式存在，线粒体呈强烈的绿色荧光（激发波长 485 nm,发射波长 535nm）。之后计算红色荧光信号与绿色荧光信号的比值，用来判断细胞健康程度。

### 注意事项：

1. JC-1 是光敏感性的，所有染色步骤的操作过程中避免强光接触。
2. JC-1 染色完成后，立即进行后续的结果分析非常必要。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS3202-200ul</u>	<u>JC-1 (5mg/ml in DMSO) 线粒体膜电位荧光探针</u>	200μl
<u>NBS3203-1mg</u>	<u>JC-1 (Powder)线粒体膜电位荧光探针（粉末）</u>	1mg
<u>NBS3204</u>	<u>JC-1 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit</u>	100T
<u>NBS3205-500ul</u>	<u>JC-10 (2mg/ml in DMSO) 线粒体膜电位荧光探针</u>	500ul
<u>NBS3206-1mg</u>	<u>JC-10 for Mitochondrial Membrane Potential</u>	1mg
<u>NBS3207</u>	<u>JC-10 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit</u>	100T
<u>NBS3208-5mg</u>	<u>Rhodamine 123 罗丹明 123（线粒体膜电位荧光探针）</u>	5mg
<u>NBS3209</u>	<u>Rhodamine 123 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit</u>	100T