

罗丹明 123 线粒体膜电位检测试剂盒**Rhodamine 123 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit**

产品编号	产品名称	包装规格
NBS3209	罗丹明 123 线粒体膜电位检测试剂盒	100T

产品简介:

罗丹明 123 线粒体膜电位检测试剂盒 (Rhodamine 123 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit) 是一种以罗丹明 123 为荧光探针, 快速且灵敏的检测细胞或纯化线粒体膜电位变化的试剂盒。因线粒体膜电位的下降是细胞凋亡早期的一个标志性事件。因此本试剂盒可用于早期的细胞凋亡检测。

罗丹明 123 (Rhodamine 123, 简写: Rh123), 一种细胞膜渗透性的阳离子荧光探针, 一种线粒体跨膜电位的指示剂。罗丹明 123 快速穿透细胞膜, 仅需几分钟就可以被具有活性的线粒体所俘获, 且对细胞没有任何毒性。最大激发波长为 507nm, 最大发射波长为 529nm。荧光显微镜下观察, 呈现黄绿色荧光, 也可用荧光光度计、荧光酶标仪或流式细胞仪检测, 通过荧光信号的强弱来判断线粒体膜电位的变化和凋亡或坏死的发生。

罗丹明 123 检测线粒体膜电位的原理在于: 正常细胞中, 罗丹明 123 依赖线粒体跨膜电位 ($\Delta\Psi_m$) 选择性进入线粒体基质, 可发出明亮的黄绿色荧光; 当细胞发生凋亡或坏死, 线粒体膜电位丧失, 线粒体通透性转化孔持续开放, 引起线粒体膜电位的崩溃, 罗丹明 123 从线粒体中释放出来, 从而导致线粒体内黄绿色荧光强度的明显降低。需注意, 有文献报道在某些特定情况下, 罗丹明 123 在线粒体内过度聚集后可能出现自淬灭现象, 线粒体内黄绿色荧光强度降低; 而在凋亡发生时, 线粒体中黄绿色荧光增强。

保存条件:

-20°C避光保存, 1 年有效。

产品组成:

组分	名称	规格	保存条件
NBS3209-A	罗丹明 123 染液 (1mg/ml)	1ml	-20°C避光, 避免反复冻融
NBS3209-B	染色缓冲液 (5×)	20ml	-20°C或 4°C

需要自备的仪器和试剂:

- 1) 流式细胞仪、荧光光度计、荧光酶标仪、荧光显微镜、共聚焦显微镜 (激发波长: 488-505nm, 发射波长: 515-575nm, 一般为 529nm)。
- 2) 【可选】线粒体提取试剂及其配套仪器
- 3) 1.5ml 微量离心管
- 4) 载玻片
- 5) 无菌双蒸水

产品使用:

1、试剂准备

于正式实验前, 取适量低温保存的染色缓冲液 (5×) 用无菌双蒸水稀释到 1×, 待用。(比如: 1ml 染色缓冲液 (5×) 加入 4ml 双蒸水, 混匀即可)。

2、细胞染色及分析

2.1 收集培养细胞调整其密度为 1×10^6 /ml, 重悬于培养基中;

2.2 加入罗丹明 123 染液 (1mg/ml) 使其浓度为: 0.1 - 50 μ g/ml (根据细胞种类不同而浓度不同, 一般染色浓度为 3 - 10 μ g/ml);

2.3 37°C 孵育 1 - 30 min (根据细胞种类不同而不同, 一般染色时间为 10 min);

2.4 离心后用培养基洗细胞两次;

2.5 重悬细胞于培养基中, 37°C 培养 60 min;

2.6 根据实验需求, 选择合适的仪器检测:

① 流式细胞仪检测: 激发波长 488-505nm, 发射波长 515-575 nm (一般为 529nm);

② 荧光显微镜观察: 滴加 100 μ l 上述混合液于载玻片上, 激发滤片波长 488nm, 发射波长为 529nm 观察。

3、线粒体染色及分析

3.1 按照常规方法提取线粒体 (或根据商业化的线粒体提取试剂盒来操作), 之后用适量的 1× 染色缓冲液重悬线粒体;

3.2 按照常规方法进行蛋白含量测定, 之后用 1× 染色缓冲液调配成 3mg/ml 蛋白浓度的线粒体溶液;

3.3 取 2ml 1× 染色缓冲液和 1ml 线粒体溶液;

3.4 加入适量待测化合物 (同时设置阴性对照组), 25°C 孵育 3min;

3.5 加入 10 μ l 罗丹明 123 染液;

3.6 用荧光光度计来检测: 将上述混合液全部加入石英比色皿中, 置于 25 $^{\circ}$ C 测定, 激发波长 488-505nm, 发射波长 529nm, 连续记录从 0-30min 内荧光强度的变化。亦可以用荧光酶标仪来检测, 激发波长为 507nm, 发射波长为 529nm; 或在软件中将检测对象设置为 FITC, 即可检测罗丹明 123 的信号。

4、荧光观测和结果分析

罗丹明 123 的最大激发波长为 507nm, 最大发射波长为 529nm。如使用荧光显微镜观察, 可以参考观察 FITC 等其它绿色荧光检测时的设置。黄绿色荧光变弱, 说明线粒体膜电位下降, 并且该细胞很可能处于细胞凋亡早期。通过对比实验组与阴性对照组测量的相对荧光值 (Relative fluorescence values, RFU), 可得出药物处理后线粒体内罗丹明 123 荧光强度的变化。此处的阴性对照组为仅含染色缓冲液未经染色的细胞样品。

注意事项:

1. 罗丹明 123 染液 (1mg/ml) 在 4 $^{\circ}$ C、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管管底、管壁或管盖内, 可以 20 ~ 25 $^{\circ}$ C 水浴温育片刻至全部融解后使用。
2. 本试剂盒仅适用于活细胞或分离线粒体的检测, 不可用于固定或冻存的细胞或组织样本的检测。
3. 荧光酶标仪检测时须使用适合荧光检测的黑板或白板。
4. 如实验需要, 可选择 CCCP 或 FCCP 用作阳性对照, 诱导线粒体膜电位丧失。
5. 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其它用途!

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>	200ul
<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