

JC-1 线粒体膜电位荧光探针

产品简介

JC-1 是一种广泛用于检测线粒体膜电位的理想荧光探针。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。(CAT:FS1164)为溶液状态的存储液，(CAT:FS1165)为冻干粉形式提供，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 $\mu\text{g/ml}$ 。

产品组成

名称	FS1164	FS1165	FS1165	FS1165	Storage
编号					
JC-1 (Powder) 线粒体膜电位荧光探针	200ul (Solution)	1mg	5mg	50mg	-20℃避光干燥
使用说明书	1 份				

基本特性

CAS:3520-43-2

同义名: 5,5',6,6'-Tetrachloro-1,1',3,3'-tetraethylbenzimidazolylcarbocyanine iodide

分子式: C₂₅H₂₇Cl₄IN₄

分子量: 652.23 g/mol

纯度: ≥95% (HPLC)

外观: 红褐色粉末

溶解性: 溶于 DMSO、DMF，几乎不溶于水。

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;

储存条件: -20℃避光干燥保存，2 年有效。

使用方法

1. 染色工作液制备

1) **JC-1 储存液制备:** 将 JC-1 从冰箱取出置于室温回温至少 20min，直接加适量高质量无水 DMSO (比如加 200ul DMSO 到 1mg 冻干粉)，使其充分溶解混匀后，即得到 5mg/ml 的储存液。溶液单次用量分装存于-20℃保存，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 5×10^5 cells/ml。37°C, 5% CO₂ 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 1×10^6 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% CO₂ 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】: 请立即进行流式定量分析, 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);

2) 用 0.3 ml 缓冲液重悬细胞, 即可进行荧光显微镜检测。【注意】: 请立即进行荧光显微分析, 此细节重要。

数据分析: 使用可同时检测 FITC/TRITC 或者 FITC/Texas Red TM 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% CO₂ 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);

2) 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。

相关产品

产品货号	产品名称	规格
FS1164-200UL	JC-1 (5 mg/ml in DMSO) 线粒体膜电位荧光探针 (5 mg/ml in DMSO)	200 μ l (1mg)
FS1165-1mg	JC-1 线粒体膜电位荧光探针	1mg
FS1166-100T	JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒	100T
FS1167-500UL	JC-10 (2mg/ml in DMSO) 线粒体膜电位荧光探针 (2mg/ml in DMSO)	500UL
FS1169-100T	JC-10 线粒体膜电位检测试剂盒	100T
FS1179-100UL	CCCP (50 mM) 凋亡诱导剂/质子载体	100UL
FS1180-100UL	FCCP (50 mM) 凋亡诱导剂/质子载体	100UL
FS0432-1G	Pluronic® F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级	1G

注意事项

- (1) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- (2) 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。
- (3) JC-1 染色完成后，立即进行后续的结果分析非常必要。

