

## JC-1 线粒体膜电位荧光探针

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格	外观
JC-1 线粒体膜电位荧光探针	40705ES03	1 mg (5 mg/mL)	溶液
JC-1 线粒体膜电位荧光探针	40705ES08	5 mg	红褐色粉末

### 产品描述

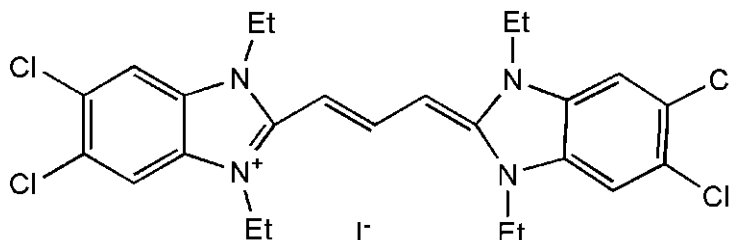
JC-1 是一种广泛用于检测线粒体膜电 $\Delta\Psi_m$  位的理想荧光探针。JC-1 染料以电势依赖性的方式积聚在线粒体内，可以用来检测细胞、组织或纯化的线粒体膜电位。正常线粒体内，JC-1 聚集在线粒体基质中形成聚合物，聚合物发出强烈的红色荧光 (Ex=585 nm, Em=590 nm)；不健康的线粒体由于膜电位的下降或丧失，JC-1 只能以单体的形式存在于胞浆中，产生绿色荧光 (Ex=514 nm, Em=529 nm)。JC-1 不仅可用于定性检测，因颜色的变化可以非常直接的反映出线粒体膜电位的变化。也可以用于定量检测，因线粒体的去极化程度可以通过红/绿荧光强度的比例来衡量。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。

JC-1 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 JC-1 浓度为 10  $\mu\text{g/mL}$ 。

### 产品性质

化学名称 (Chemical name)	5,5',6,6'-Tetrachloro-1,1',3,3'-tetraethylbenzimidazolylcarbocyanine iodide
CAS 号 (CAS NO.)	3520-43-2
分子式 (Formula)	$\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{Cl}_4\text{IN}_4$
分子量 (Molecular Weight)	652.23
纯度 (Purity)	>95% (HPLC)
外观 (Appearance)	红褐色粉末
溶解性 (Solubility)	溶于 DMSO 和 DMF，不溶于水
荧光光谱 (Fluorescent spectrum)	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

### 结构式



### 运输与保存方法

冰袋 (wet ice) 运输。

粉末 -20 $^{\circ}\text{C}$  干燥避光保存，至少一年有效。储存液分装成单次使用量，-20 $^{\circ}\text{C}$  干燥避光保存，避免反复冻融，约一年有效。

## 使用方法

### 1. 工作液配制:

- 1) JC-1 粉末 (5 mg): 直接加 1 mL DMSO 到粉末内, 室温颠倒混匀使其充分溶解, 即得到 5 mg/mL 的储存液。溶液分装成小量储存于 -20°C, 避光干燥, 避免反复冻融。
- 2) JC-1 储存液 (1 mg in DMSO): 本品是 JC-1 的 DMSO 储存液, 浓度为 5 mg/mL。使用者需要根据单次用量来分装, -20°C 避光干燥, 避免反复冻融。
- 3) 工作液配制: 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) 到需要的工作液浓度, 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 JC-1 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, 则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, 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:** 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, 即可进行后续的流程分析。**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 的缓冲液重悬细胞, 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:** 使用可同时检测荧光素 fluorescein/罗丹明或者荧光素 fluorescein/Texas Red™ 的双带通滤波器进行检测。未凋亡的活细胞因 JC-1 聚集后线粒体呈红色, 最大发射波长为 590 nm。凋亡和坏死细胞染料一直以单体形式存在, 线粒体呈现绿色。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来清洗细胞 2 次。

5) 加入 2 mL 细胞培养液（培养液可含有血清和酚红）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）；

9) 用 300  $\mu$ L 缓冲液重悬细胞；然后按照每孔 100  $\mu$ L 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：**健康细胞内，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）。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 535 nm）。然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。