

CCCP

1. 产品描述

CCCP，即羰基氰化物间氯苯腙（Carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone），一种质子载体（H⁺ ionophore）。CCCP 是一种强效的线粒体氧化磷酸化解偶联剂，促使线粒体内膜对 H⁺ 产生通透性，导致线粒体内膜两侧的膜电位丧失，诱导凋亡发生。CCCP 也可作用于叶绿体膜，抑制光合作用；CCCP 还可抑制内质网-高尔基体之间的蛋白转运，高亲和力结合细胞色素 C 氧化酶。

CCCP 常用于线粒体自噬(mitophagy)和自噬(autophagy)研究。在小鼠胚胎成纤维细胞(MEF)细胞中，CCCP 促进 Keap1 降解（部分依赖自噬），进而激活 Nrf2。CCCP 诱导的 LC3 脂化可能独立于 Beclin 1 和 Atg14，相反，CCCP 诱导的 LC3 脂化需要 Atg9，这对于将囊泡运输到早期自噬体结构很重要。CCCP 以不依赖 AMPK 的方式促进内源性 LC3 脂化。CCCP 的处理可显著降低猪卵母细胞中的 ATP 含量，并提高活性氧（ROS）水平。

CCCP 与铜绿假单胞菌的 MexAB-OprM 外排系统的表达相关，并损害其生物膜的形成。

2. 产品信息

货号	产品名称	规格
B5003	CCCP	500mg

3. 使用方法

(1) 工作液配制

1) 储存液配制：CCCP 以粉末形式提供，产品开盖前需要经过瞬时离心。如果产品是从冰箱中取出则需要先置于室温进行回温。取 10 mg CCCP 粉末于 1.5mL 离心管中，加入 978 μ L DMSO，室温颠倒混匀使其充分溶解，即得到浓度为 50 mM 的储存液。储存液配置的浓度可以根据实验需求进行调整。使用者需要根据单次用量将溶液分装成小量储存于 -20 $^{\circ}$ C，避免反复冻融。

2) 工作液配制：将冻存的储存液置于室温充分融化和回温，之后用缓冲液或者预热的培养液直接稀释储存液到需要的工作液浓度，充分混匀。推荐的工作液浓度为 5-20 μ M。具体的浓度要根据实验需要进行进一步的调整。

(2) 凋亡诱导

1) 制备细胞悬液（密度不要超过 1×10^6 cells/mL），在 6-，12 或 24-孔板上进行细胞铺板。置于 37 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 细胞培养箱中培养过夜。细胞加入 CCCP 工作液，放入 37 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 细胞培养箱中孵育进行凋亡诱导 20 min。【注意】：对于特定的细胞，CCCP 的作用浓度和作用时间可能有所不同，需参考相关文献资料。实验过程中控制好总体稀释倍数，DMSO 在培养液中的浓度不能超过 0.1%，以避免 DMSO 对细胞的影响。

2) 随后可进行 JC-1 线粒体膜电位丧失检测，呈绿色荧光。CCCP 常用作一种阳性对照来诱

导细胞凋亡，并配合线粒体膜电位检测探针 JC-1（货号：A3516）来进行相关研究。