

JC-10 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit

产品描述

JC-10线粒体膜电位检测试剂盒（JC-10 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit）是一种通过荧光探针JC-10检测细胞内线粒体膜电位变化的试剂盒。本试剂盒可以用于细胞线粒体、组织线粒体或纯化的线粒体的膜电位检测。

$\Delta\Psi_m$ ，即线粒体膜电位（Mitochondrial Membrane Potential），是反映线粒体功能的一个重要参数。同时线粒体膜电位下降是细胞早期凋亡的重要标志，通过检测线粒体膜电位变化可以得知细胞的凋亡情况。JC-10是一种广泛使用的线粒体膜电位检测探针。在线粒体膜电位较高时，JC-10聚集在线粒体基质中并形成聚合物，发出明亮的红色荧光；当线粒体膜电位下降时，JC-10不能聚集在线粒体中，并从聚合物转变成单体，此时JC-10为绿色荧光。通过红/绿荧光的相对比例就可以判断线粒体膜电位下降的情况。相比于另一种常用的线粒体荧光探针JC-1，JC-10的水溶性更好，同时检测灵敏度更高。

本试剂盒提供CCCP作为诱导线粒体膜电位下降的阳性对照，对于大多数细胞，经CCCP处理后，线粒体膜电位基本完全消失。对于6孔板，本试剂盒可检测100个样品；对于12孔板，本试剂盒可检测200个样品。

组分和储存条件

Components	K2001-100 T
JC-10(200X)	5 x 100 μ L
ddH ₂ O	90 mL
Staining Buffer (5X)	80 mL
CCCP (10 mM)	20 μ L

This kit should be stored at -20°C, stable for 1 year. JC-10 (200X) and CCCP (10 mM) should be stored at -20°C away from light, and avoid repeated freeze/thaw cycles.

实验操作

- JC-10工作液配制：**根据实验所需配制适量JC-10工作液。按每50 μ L JC-10 (200X)加入8 mL ddH₂O稀释并充分溶解JC-10，随后继续加入2 mL Staining Buffer (5X)，混匀后即为JC-10工作液。JC-10工作液需要现配现用。

***Note:** JC-10 (200X)稀释时必须按操作说明进行，即先用 ddH₂O 充分溶解混匀后再加入 Staining Buffer (5X)混匀。不可以直接用 Staining Buffer (1X)溶解 JC-10 (200X)，这样 JC-10 会很难充分溶解，影响后续检测。

- 阳性对照设置：**将CCCP (10 mM)按1: 1000的比例稀释于细胞培养基中，即为CCCP工作液 (10 μ M)，用CCCP工作液处理细胞20 min。随后按下述操作装载JC-10探针后进行线粒体膜电位检测。CCCP处理的细胞经JC-10

染色后应该呈现绿色荧光，而正常的细胞经JC-10染色后应该呈现红色荧光。

***Note:** 对于大多数细胞，经 10 μ M CCCP 处理 20 min 后，线粒体膜电位基本完全消失。但是对于特殊的细胞，具体处理的浓度和时间可以根据实验进行调整。

3. JC-10染色:

A. 贴壁细胞染色

贴壁细胞如果需要用荧光分光光度计或流式细胞仪检测，可以消化收集细胞，重悬后参考悬浮细胞操作步骤进行。

- 1) 取适量Staining Buffer (5X)，用ddH₂O稀释成Staining Buffer (1X)。随后将Staining Buffer (1X)冰浴，全程使用预冷Staining Buffer (1X)。
- 2) 对于6孔板，除去培养基，如有必要可用预冷Staining Buffer (1X)洗涤1次。将JC-10工作液和细胞培养基按1: 1充分混合后加入细胞。细胞培养基可以含有血清和酚红。随后37°C避光孵育20 min，孵育时间可以根据具体实验进行调整。

***Note:** 对于6孔板，每孔可加入2 mL JC-10工作液和细胞培养基的预混液。

- 3) 孵育结束后，弃去工作液，用预冷Staining Buffer (1X)洗涤2次，随后加入适当培养基进行检测。

B. 悬浮细胞染色

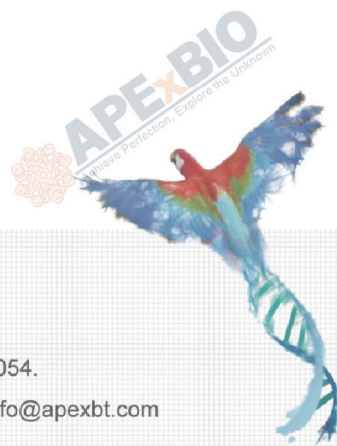
- 1) 取适量Staining Buffer (5X)，用ddH₂O稀释成Staining Buffer (1X)。随后将Staining Buffer (1X)冰浴，全程使用预冷Staining Buffer (1X)。
 - 2) JC-10工作液和细胞培养基按1: 1充分混合后形成工作预混液。细胞培养基可以含有血清和酚红。收集细胞并重悬于工作预混液中，调整细胞密度为 1×10^5 - 1×10^6 cells/mL。随后37°C避光孵育20 min，孵育时间可以根据具体实验进行调整。
 - 3) 孵育结束后，弃去工作液，用预冷Staining Buffer (1X)洗涤2次，随后加入适当培养基重悬细胞进行检测。
4. 检测：检测JC-10单体时可以设置Ex/Em = 490/525 nm；检测JC-10聚合物时可以设置Ex/Em = 540/590 nm。如果使用荧光显微镜观察，检测JC-10单体可以参考检测其他绿色荧光的设置，如检测GFP或FITC的设置；检测JC-10聚合物可以参考检测其他红色荧光的设置，如检测PI或Cy3的设置。如果使用流式细胞仪检测，检测JC-10单体可以使用FL1通道；检测JC-10聚合物可以使用FL2通道。

***Note:** 使用荧光显微镜检测时，过度曝光容易导致荧光淬灭，所以在不拍摄的时候请及时开启遮光板。若出现荧光信号下降或荧光淬灭的情况，可以转移至其他视野。

■ 注意事项

1. JC-10 (200X)在温度较低时会凝固粘在离心管管底、管壁或管盖内，可以20-25°C水浴至完全融解后使用。为避免反复冻融，可以将JC-10 (200X)分装后保存。同时JC-10在保存和使用过程中都需要避光。
2. JC-10 (200X)稀释时必须按操作说明进行，即先用ddH₂O充分溶解混匀后再加入Staining Buffer (5X)混匀。不可以直接用Staining Buffer (1X)溶解JC-10 (200X)，这样JC-10会很难充分溶解，影响后续检测。

3. 冰浴的Staining Buffer (1X)的使用效果较好，建议全程都使用预冷的Staining Buffer (1X)。
4. JC-10染色完并洗涤后需要尽量在30 min内完成检测，检测前样品需要冰浴保存。
5. 请勿将所有Staining Buffer (5X)一次性全部配成Staining Buffer (1X)，因为实验中需要直接使用Staining Buffer (5X)。
6. 如果发现Staining Buffer (5X)出现沉淀，可以37°C适当加热完全溶解后再使用。请勿使用已出现沉淀的Staining Buffer (5X)。
7. CCCP是一种线粒体电子传递链抑制剂，对人体有毒，操作时请注意防护。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
9. 本产品仅限于科研使用，不得用于临床诊断或治疗。



APEX BIO Technology
www.apexbt.com

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com