

JC-10 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-10 线粒体膜电位荧光探针	40707ES03	1mg (2 mg/mL)	溶液
JC-10 线粒体膜电位荧光探针	40707ES08	5 mg	红色粉末

产品描述

线粒体膜电位荧光探针 JC-10 是 JC-1 的升级产品，同样可用于检测线粒体膜电位的变化。因 JC-1 虽然在许多实验中被广泛应用，但是其水溶性很差，即使在 1 μ M 浓度的条件下，JC-1 也会在水的缓冲液中析出。而 JC-10 具有更好的水溶性，可以在某些需要高浓度染料的实验中替代 JC-1。

正常细胞内，JC-10 选择性聚集在线粒体基质中形成可逆的红色荧光聚合物 (Ex=540 nm, Em=590 nm)；不健康的线粒体由于膜电位的下降或丧失，JC-10 由多聚体转变为单体形式存在于胞浆中，产生绿色荧光 (Ex=490 nm, Em=525 nm)。JC-10 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。这两种颜色的变化可以用流式细胞仪上的标准滤光器检测到，绿色荧光可用 FL1 通道分析，红色荧光可用 FL2 通道分析。除了用于流式细胞术，也可以用于荧光成像和荧光酶标板检测平台。

在一些细胞系中 JC-10 有着比 JC-1 更好的表现。不过，JC-10 的性能表现极具细胞依赖性特征。

产品性质

化学名称 (Chemical name)	5,6 -Dichloro-1,1',3,3'-tetraethyl-imidacarbocyanine iodide; Enhanced JC-1;
分子式 (Formula)	C ₂₅ H ₂₇ Cl ₂ IN ₄
分子量 (Molecular Weight)	583.34
纯度 (Purity)	>95% (HPLC)
外观 (Appearance)	红色粉末
溶解性 (Solubility)	溶于 DMSO
荧光光谱 (Fluorescent spectrum)	单体形式 (monomer form): Ex=490 nm, Em=525 nm 聚合物形式 (J-aggregate form): Ex=540 nm, Em=590 nm

运输与保存方法

冰袋 (wet ice) 运输。粉末 -20 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 干燥避光保存，避免反复冻融，约一年有效。

注意事项

- 1) JC-10 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-10 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。

使用方法

工作液配制:

- 1) JC-10 粉末 (5 mg): 直接加 2.5 mL DMSO 到粉末内, 室温颠倒混匀使其充分溶解, 即得到 2 mg/mL (约 3 mM) 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-10 储存液 (1 mg in DMSO): 本品是 JC-10 的 DMSO 储存液, 浓度为 2 mg/mL (约 3 mM)。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 (现配现用): 将冻存的储存液置于室温充分融化, 之后用 HHBS (1×Hanks with 20 mM Hepes buffer, pH 7.0) 或其他缓冲液 (pH 7-8, 含 0.02% Pluronic® F-127) 配制 10-30 μM 1×工作液。涡旋混匀。

【注】 对于某些细胞, 在 pH 8 情况下可能会阻止 JC-10 渗透入细胞。

JC-10 染色步骤 (荧光酶标仪)

1) 细胞准备

贴壁细胞: 细胞养过夜使其密度达到 $2 \times 10^4 \sim 8 \times 10^4$ cells/well/90 μL (96 孔板) 或者 $5 \times 10^3 \sim 2 \times 10^4$ cells/well/20 μL (384 孔板)。

悬浮细胞: 离心后重新将细胞悬浮在培养液中 $1 \times 10^5 \sim 2 \times 10^5$ cells/well/90 μL (多聚赖氨酸包被的 96 孔板) 或者 $2.5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$ cells/well/20 μL (多聚赖氨酸包被的 384 孔板)。实验前 800 rpm 离心 2 分钟。注意: 不同的细胞系需要根据具体情况优化凋亡实验用的最佳细胞密度。

2) 用实验药物 (10 μL 10×化合物) 处理细胞一段时间以诱导细胞凋亡 (例如, 用 camptothecin 处理 Jurkat 细胞 4-6 h)。空白对照 (只有培养基不含细胞) 中加入相同量的药物。

【注】 药物处理前没有必要清洗细胞。但是, 如果药物对血清敏感, 可在加入药物前吸掉培养基和血清因子。然后加入等量体积的 HBSS 溶液到孔内。或者细胞直接培养在无血清培养基内。

3) 加入 100 μL/孔 (96 孔板) 或 25 μL/孔 (384 孔板) JC-10 工作液。

4) 37°C, 5% CO₂ 孵育 15-60 min。具体孵育时间取决于细胞类型和细胞浓度。每次实验建议优化体系。

5) 直接进行荧光变化检测, 记录 Ex/Em = 500/525 nm (FITC 通道) 和 540/595 nm (TRITC 通道) 的荧光值, 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。

(可选) 或者, 吸除 JC-10 工作液, 加入 100 μL/孔 (96 孔板) 或 25 μL/孔 (384 孔板) HHBS, 再进行后续的荧光酶标仪检测。

JC-10 染色步骤 (荧光显微镜或流式细胞仪)

1) 培养细胞过夜使其在药物处理以诱导凋亡时的密度为: $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ cells/mL。选择实验药物处理细胞一段时间以诱导细胞凋亡 (例如, 用 camptothecin 处理 Jurkat 细胞 4-6 h)。

【注】 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) 离心, 去上清, 每管得到 $1-5 \times 10^5$ 细胞。

3) 用 500 μL JC-10 工作液重悬细胞。

4) 室温孵育或 37°C, 5% CO₂ 孵育 15-60 min, 需避光。具体孵育时间取决于细胞类型和细胞浓度。

5) 用荧光显微镜分别观察 Ex/Em = 490/525 nm (FITC 通道) 和 540/595 nm (TRITC 通道) 的荧光变化; 或者用流式细胞仪 (FL1 和 FL2 通道进行检测)。

(可选) 或者, 吸除 JC-10 工作液, 加入 100 μL/孔 (96 孔板) 或 25 μL/孔 (384 孔板) HHBS, 再进行后续的荧光显微镜检测。