



JC-10 (10mM) 线粒体膜电位荧光探针

产品编号	产品名称	包装
DW4012	JC-10 (10mM) 线粒体膜电位荧光探针	100T

产品简介:

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 μM 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。

使用方法 (参考)

工作液配制:

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 \times Hanks with 20 mM Hepes buffer, pH 7.0) 或其他缓冲液 (pH 7-8, 含 0.02% Pluronic[®] F-127) 配制成 10-30 μM 1 \times 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 \times 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 $^{\circ}\text{C}$, 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。



多沃生物

Dowobio Biotechnology Co., Ltd



- 3) 用 500 μL JC-10 工作液重悬细胞。
- 4) 室温孵育或 37 $^{\circ}\text{C}$, 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。

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。
4. 本产品仅作科研用途!

本产品文章中的写法:

英文: Dowobio (Shanghai, China)

中文: 上海多沃生物科技有限公司 Dowobio, 上海