

JC-1 (500×)

目录号	规格
FXP133-100	100 μ L
FXP133-200	200 μ L
FXP133-500	500 μ L

分子量: 652.23

溶剂: DMSO

储存条件: -20°C保存, 1年有效。建议分装后保存, 请勿反复冻融。若是冻融建议不要超过2次。

描述:

JC-1 广泛应用于线粒体膜点位的流式检测。其能够选择性进入线粒体, 并且在线粒体膜电位增加(大约超过 80~100mV) 时, 其能够实现绿色荧光到橙色荧光的可逆变化。该特性源于 JC-1 聚集在膜上的可逆形式, 引起发射光从 530nm 到 590nm 的转换(530nm 激发光对应 JC-1 单体形式, 590nm 对应 J 聚体)。490nm 激发时, 线粒体膜极化, JC-1 颜色由绿色转为绿橙色。这两种颜色一般都能够利用流式细胞仪配备的不同通道检测到, FL1 通道能够分析绿色荧光, FL2 通道分析绿橙色荧光。JC-1 的主要优势是既能用于定性分析又能用于定量分析, 绿色向橙色荧光转换用于定性分析, 纯色荧光强度用于定量分析, 都能在 FL1 和 FL2 两个通道检测。JC-1 除了能用于流式检测, 还能用于荧光成像。我们还对其荧光微孔板成像的应用做了说明。尽管 JC-1 能够广泛应用于多种实验, 但因其水溶性差也影响一些应用的实现。我们的 JC-10 比 JC-1 水溶性更好, 并且在一些细胞系中 JC-10 比 JC-1 效果更好。JC-10 的性能依赖于细胞系。

实验步骤:

1. 准备 JC-1 工作液:

1.1 室温解冻 JC-1(500×)。为避免反复冻融, 可根据实验情况进行分装成多支。

1.2 准备 1×JC-1 工作液: 根据细胞培养板及样本数计算需要 1×JC-1 工作液的用量。具体可参考下表 1, 然后根据用量配置成 1×JC-1 工作液: 取适量 JC-1(500×), 先加入少量 Hanks 或 HHBS 缓冲液, 用移液枪反复吹打或剧烈 Vortex 充分溶解并混匀 JC-1, 补足缓冲液体积。

【例如: 需要用流式管处理 10 个样本, 那么共需要 5ml 的 1×JC-1 工作液, 为避免沾带, 我们可以多配置一点。配置 6 ml 的 1×JC-1 工作液, 那需要取 12 μ L 的 JC-1(500×), 加入 Hanks 和 HHBS 缓冲液总体积为 5988 μ L】

4A Biotech Co., Ltd.

Add: No. Room 201, building 17, No. 8, Jinfeng Road, science and Technology City, Gaoxin District, Suzhou
Website: www.4abio.net Toll Free (China only): 400-7060-959 Technical support: tech@4abio.com

注：JC-1 不溶于水，所以其在溶液中呈聚集状态。建议转入细胞前过滤JC-1 工作液。

表 1

细胞培养板或流式管规格	每孔 1×JC-1 工作液用量
六孔板	1ml
96 孔板	100μL
384 孔板	25μL
流式管（ 5×10^5 - 1×10^6 个细胞）	500μL

2. 对照设置:

- 2.1 阳性对照：用化合物诱导细胞凋亡（例如，Jurkat 细胞用喜树碱处理 4~6 小时），得到阳性对照样本。
- 2.2 空白对照：加入等量的 Hanks 或 HHBS 缓冲液。

3. 样本处理及检测:

- 2.1 按照表 1 用量把 1×JC-1 工作液到细胞培养板或流式管。
- 2.2 加入 JC-1 工作液的细胞培养板或流式管，在 37°C，5% CO₂ 条件下孵育 15~60min。

注：最佳孵育时间需要根据细胞类型和细胞浓度来优化。

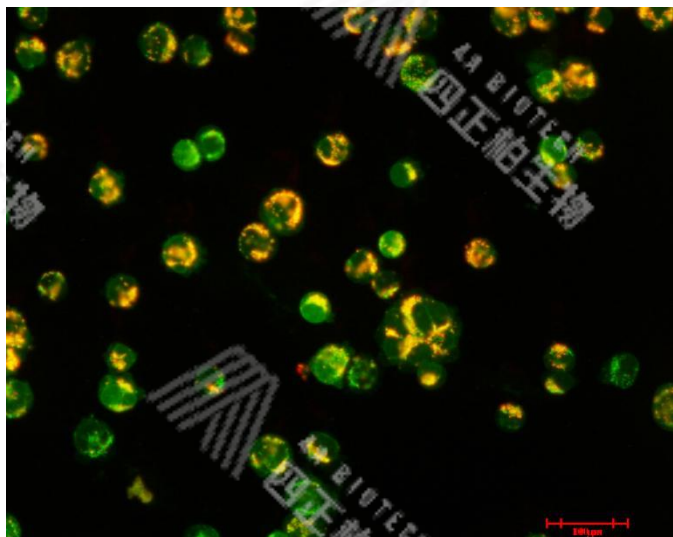
- 2.3 去除培养板内的 JC-1 工作液，600g，4°C，离心 5 分钟，弃上清。
- 2.4 加入 Hanks 或 HHBS 缓冲液洗涤细胞。加入原体积量 Hanks 或 HHBS 缓冲液重悬细胞，600g，4°C，离心 5 分钟，弃上清。重复 2 次。加入适量的 Hanks 或 HHBS 缓冲液重悬细胞。
- 2.5 上机检测：荧光显微镜（利用 FITC 和 TRITC 通道）或流式细胞仪（利用 FL1 和 FL2 通道）检测 Ex/Em=490/525 和 490/590 的荧光变化。

3. 分析:

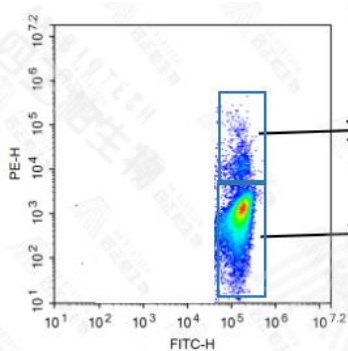
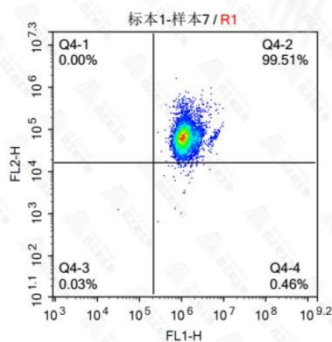
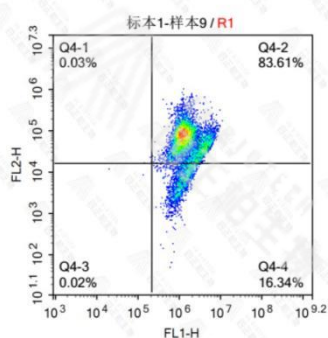
- 3.1 荧光显微镜：（利用 FITC 和 TRITC 通道）。

4A Biotech Co., Ltd.

Add: No.Room 201, building 17, No. 8, Jinfeng Road, science and Technology City, Gaoxin District, Suzhou
Website: www.4abio.net Toll Free (China only): 400-7060-959 Technical support: tech@4abio.com



3.2 用流式细胞仪检测细胞凋亡的情况，绿色荧光通过 FL-1(FITC)通道检测，红色荧光通过 FL-2(PE)通道检测。FL-1+，FL-2+为正常细胞，FL-1+，FL-2-为凋亡细胞。以下是阳性对照，空白对照及检测流式样本图。



正常细胞
凋亡细胞

阳性对照
用 5uM 喜树碱诱导 Jurkat 细胞 4 小时

空白对照

检测样本

参考文献:

- [1].Daniela Smejkalová, Tomáš Muthny, Kristina Nešporová.Hyaluronan polymeric micelles for topical drug delivery.Carbohydrate Polymers (2017): 86--96
- [2].Helma Freitag, Friederike Christen, Florentine Lewens.Inhibition of mTOR's Catalytic Site by PKI-587 Is a Promising Therapeutic Option for Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumor Disease.Neuroendocrinology (2016)
- [3].Yujia Yuan, Meimei Shi, Lan Li, Jingping Liu, Bo Chen.Mesenchymal Stem Cells-Conditioned Media Ameliorates Diabetic Endothelial dysfunction by Improving Mitochondrial Bioenergetics via the Sirt1/AMPK/PGC-1 Pathway.Clinical Science (2016): CS20160235

4A Biotech Co., Ltd.

Add: No.Room 201, building 17, No. 8, Jinfeng Road, science and Technology City, Gaoxin District, Suzhou
Website: www.4abio.net Toll Free (China only): 400-7060-959 Technical support: tech@4abio.com

相关产品:

货号	产品名称	应用
FXP071	CFSE	FC
FXP136	FLUO-4 AM, 钙离子荧光探针	FC
FXP134	JC-10 (500×)	FC
FXP132	Cell Counting Kit-8 (CCK-8)	FC

4A Biotech Co., Ltd.

Add: No. Room 201, building 17, No. 8, Jinfeng Road, science and Technology City, Gaoxin District, Suzhou
Website: www.4abio.net Toll Free (China only): 400-7060-959 Technical support: tech@4abio.com