

JC-10(500×)

目录号	规格
FXP134-100	100 μL
FXP134-200	200 μL
FXP134-500	500 μL

分子量: ~600

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-10 是一种新型的阳离子亲脂性荧光指示剂, 用来检测线粒体膜电位。JC-10 可以选择性地进入线粒体, 由于膜电位的增加, 其颜色从绿色到红色出现可逆性转变。这种特性是由于 JC-10 聚合物的可逆结构。在膜极化条件下, 它的发射光由 520nm (JC-10 单体) 转移到 570nm (J-聚合物)。这两种颜色都可以被流式细胞仪上滤光器检测到。绿色发射光可以通过荧光通道 1 (FL1) 进行分析, 红色发射光可以通过荧光通道 2 (FL2) 进行分析。适合多种细胞系的检测, 如神经细胞和肌细胞等。而且也可以用于研究如 ATP 合成、活性氧(ROS)和细胞凋亡等过程。同样 JC-10 也可以用于荧光显微镜和荧光酶标仪分析。

低膜电位时, JC-10 累计在线粒体内, 并且大多数均是单体(Monomer)形式存在, 在膜电位增高时, 越来越多的 JC-10 累计在线粒体基质 (Matrix) 内, 形成聚合物 (J-aggregates), 发射光也由 520nm 变为 570nm。JC-10 聚合物是膜极化的一种功能体现, JC-10 荧光强度能反映出线粒体膜的去极化和超极化。

*相较于 JC-1, JC-10 具有更多的优点:

良好的水溶性

操作简单, 省时。

信号强, 良好信噪比

误差小, 良好的结果一致性

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

实验步骤:

1. 准备 JC-10 工作液:

1.1 室温解冻 JC-10(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-10 工作液：根据细胞培养板及样本数计算需要 1×JC-10 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-10 工作液：取适量 JC-10(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-10，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-10 工作液，为避免沾带，我们可以多配置一点。配置 6 ml 的 1×JC-10 工作液，那需要取 12 μL 的 JC-10(500×)，加入 Hanks 和 HHBS 缓冲液总体积为 5988 μL】

注：JC-10 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-10 工作液。

表 1

细胞培养板或流式管规格	每孔 1×JC-10 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-10 工作液到细胞培养板或流式管。

2.2 加入 JC-10 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-10 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。

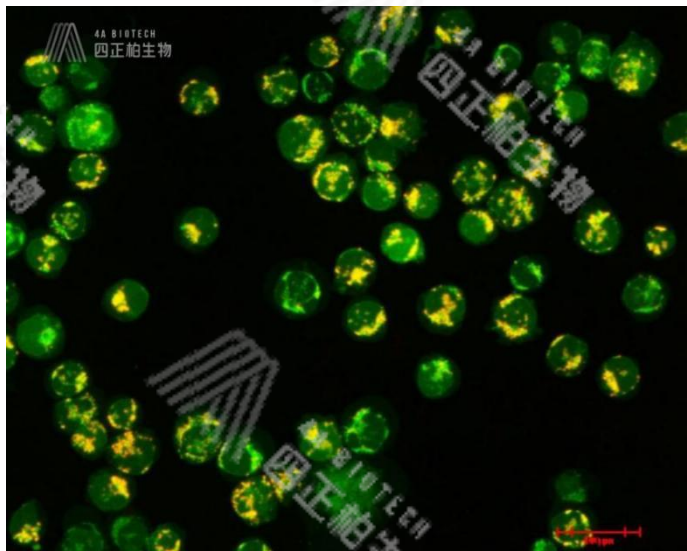
2.5 上机检测：荧光显微镜（利用 FITC 和 TRITC 通道）或流式细胞仪（利用 FL1 和 FL2 通道）检测 Ex/Em=490/525 和 490/590 的荧光变化。

3. 分析:

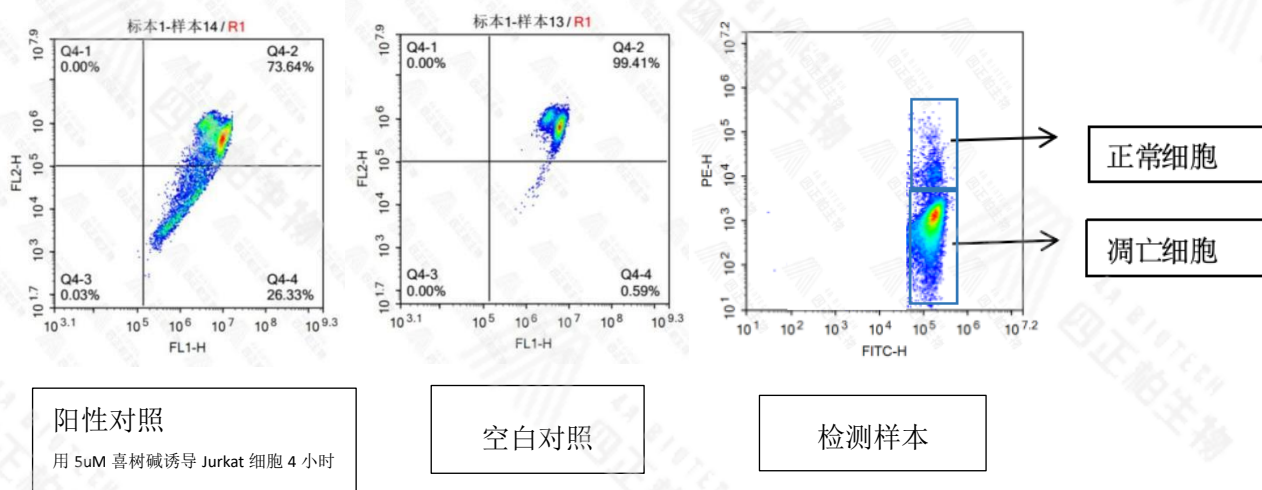
3.1 荧光显微镜：（利用 FITC 和 TRITC 通道）。

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。



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 伪 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
FXP133	JC-1 (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