

## JC-10 线粒体荧光探针

### 产品介绍

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  $\mu\text{M}$  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。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。

在线粒体膜电位较低时, JC-10 不能聚集在线粒体的基质中, 此时 JC-10 为单体 (monomer), 最大发射波长为 527 nm, 可以产生绿色荧光; 在线粒体膜电位较高时, JC-10 聚集在线粒体的基质中, 形成聚合物 (J-aggregates), 最大发射波长为 590 nm, 可以产生红色荧光。因此可非常方便地通过荧光颜色的转变来检测线粒体膜电位的变化。

线粒体膜电位的下降是细胞凋亡早期的一个标志性事件。通过 JC-10 从红色荧光到绿色荧光的转变可以很容易地检测到细胞膜电位的下降, 同时也可以利用 JC-10 从红色荧光到绿色荧光的转变作为细胞凋亡早期的一个检测指标。

### 应用范围

线粒体荧光染料

### 产品货号

J4061

### 储运条件

-20°C 干燥避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

### 产品特点

**适用范围广:** 可以用来检测细胞、组织或纯化的线粒体膜电位;

**稳定性好:** 荧光亮度高且抗淬灭性好;

**批间差小:** 公司自研产品, 批间差稳定。

### 产品组分

| 组分           | J4061 |
|--------------|-------|
| JC-10线粒体荧光探针 | 5 mg  |

### 产品参数

**外观:** 可溶于 DMSO 的红色固体

**CAS 号:** 5563-28-0

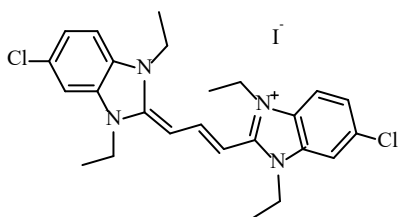
**单体 Ex/Em:** 510/527 nm

**聚合物 Ex/Em:** 585/590 nm

**分子式:**  $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{Cl}_2\text{IN}_4$

**分子量:** 583.3

**分子结构图:**



### 注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底, 再进行后续实验。
- 为防止沉淀产生, 不建议直接用  $1\times\text{PBS}$  将储液稀释成工作液。JC-10 用于检测细胞的线粒体膜电位时常用的工作液浓度范围为 10-30  $\mu\text{M}$ 。详细的使用方法请参考相关文献资料。
- JC-10 如果一次使用量较小, 储液分装成小量储存于 -20°C, 干燥避光, 避免反复冻融。
- 工作液配制完成后, 一定要及时孵育细胞, 避免工作液产生沉淀。
- JC-10 染色并洗涤完成后尽量在 30 min 内完成后续检测。在检测前需冰浴保存。
- 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量避光, 以减缓荧光淬灭。
- 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 自备材料

- 耗材  
细胞培养板
- 试剂  
CCCP 阳性凋亡药物
- 仪器  
荧光显微镜

### 操作步骤

#### 1. 配置染料工作液

使用前请将产品瞬时离心至管底, 将 1 mL 无水 DMSO 直接加入离心管内配制成 5 mg/mL 的 JC-10 储液, 稀释成常用的工作液浓度 (参考浓度范围为 1~20  $\mu\text{g/mL}$ )。

**注:** 因 JC-10 不溶于水, 配置 JC-10 染色工作液时, 易产生沉淀。

推荐方法: 取一定体积的储液, 先用  $\text{ddH}_2\text{O}$  稀释, 后加入适当体积的  $10\times\text{PBS}$  稀释成工作液, 如: 储液浓度为 5 mg/mL, 配置的工作液浓度为 10  $\mu\text{g/mL}$  时, 可取 1  $\mu\text{L}$  的储液加入到 450  $\mu\text{L}$  的  $\text{ddH}_2\text{O}$  中, 后加入 50  $\mu\text{L}$  的  $10\times\text{PBS}$ ; 若出现沉淀, 可 37°C 加热处理。

#### 2. 收集细胞

将孔板中的培养基弃去, 用 PBS 清洗细胞 2 次。

#### 3. 染色

向孔板中加入一定体积适宜浓度的染色工作液, 附表 1 总结了几种不同细胞的染色方案。

#### 4. 荧光显微镜观察

染色完成请立即进行荧光显微分析。使用可同时检测 FITC 和 TRITC 的双通道荧光显微镜进行检测。未凋亡的活细胞 (健康线粒体、高膜电位) 因 JC-10 聚集后线粒体呈红色, 最大发射波长为 590 nm。凋亡和坏死细胞 (受损线粒体、低膜电位) 因 JC-10 染料以单体形式存在, 线粒体呈现绿色。最大发射波长为 530 nm。计算红色荧光与绿色荧光的比率 (Red/Green Ratio), 进而判断细胞健康程度, 直观反映群体细胞中膜电位发生变化的细胞比例。

**注:** 如使用流式细胞仪, 则 FL1 和 FL2 通道进行检测。

## 附录

附表1 JC-1细胞染色条件

| Method            | Cell Type                      | Adherent/<br>Dissociated | Incubation Conditions |             |           |
|-------------------|--------------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------|-----------|
|                   |                                |                          | Dye<br>Concentration  | Temperature | Time      |
| Microscope        | Neurons(rat)                   | Adherent                 | 2.0 µg/mL             | 37°C        | 20~30 min |
|                   | Neurons(rat)                   | Adherent                 | 1.0 µg/mL             | 37°C        | 20 min    |
|                   | O-2A<br>Oligodendrocytes (rat) | Adherent                 | 10 µg/mL              | 37°C        | 10 min    |
|                   | PC12                           | Adherent                 | 10 µg/mL              | 37 °C       | 10 min    |
|                   | Cardiac<br>Myocytes (rat)      | Dissociated              | 10 µg/mL              | 37°C        | 10 min    |
|                   |                                |                          |                       |             |           |
| Flow<br>Cytometer | Human<br>Fibroblasts           | Dissociated              | 0.3 µg/mL             | 37°C        | 1 hour    |
|                   | Colo-205                       | Dissociated              | 10 µg/mL              | 37°C        | 10 min    |
|                   | U937                           | Dissociated              | 10 µg/mL              | 22°C        | 10 min    |

## FAQ

1. 问：在测线粒体膜电位时，未处理的细胞也会发出荧光，而且在试验样品中为什么没有看到显著差异？

答：无论您使用哪种染料，四甲基罗丹明甲酯(TMRM)还是 MitoTracker Red FM，未处理的细胞都会发出荧光。只要细胞线粒体膜电位降低就会导致荧光信号降低，最重要的是变化的程度。当线粒体膜电位发生改变时，JC-1 染料不仅强度改变，还有激发和发射比例光谱的改变。设置未处理的对照和用线粒体膜电位去稳定剂（如 CCCP 或 FCCP）处理的阳性对照是非常重要的。这些染料仅用于活细胞，在固定处理的细胞中无法保留相同程度的信号。

2. 问：用 PFA 固定是否可行（现场成像后，用于储存）？这会干扰染料信号吗？

答：如果您想保持 JC-1 染料和固定后检测到的线粒体膜电位之间的关系，这是不可能的，这是因为 JC-1 依赖于线粒体膜电位，而线粒体膜电位将被固定所消除。

3. 问：请问做 JC-1 培养板该如何选择？比如用酶标仪检测吸光度的话是否一定需要在避光培养板中做？普通的透明板可以吗？如果用荧光显微镜观察拍照的话又应该用什么板呢？

答：荧光酶标仪检测的话要选用黑色的酶标板，荧光显微镜拍照的话可以用透明的板子。

4. 问：本产品适用于那些样本检测？

答：活细胞或者纯化后的线粒体。组织样本只能先做线粒体纯化（或消化为单个细胞），才能做后续染色。

5. 问：请问染色后，用抗淬灭剂封片后免疫荧光显微镜观察，镜下观察细胞会移动，拍出来的照片是模糊的，请问出现这种情况一般考虑什么问题？怎么解决呢？

答：可能是细胞没固定的原因，一般可以在孔板里染色后直接用倒置显微镜在孔板里观察，不用封片。

## 同系列产品

| 产品货号   | 产品名称                              | 选购指南                                               |
|--------|-----------------------------------|----------------------------------------------------|
| J6004S | JC-1线粒体膜电位检测试剂盒                   | 具有JC-1染料优势；试剂盒中提供CCCP作为诱导线粒体膜电位下降的阳性对照             |
| J4001  | JC-1线粒体荧光探针                       | JC-1从红色荧光到绿色荧光的转变可以很容易地检测线粒体膜电位的下降，同时作为细胞凋亡早期的检测指标 |
| J4061  | JC-10线粒体荧光探针                      | JC-1（J4001）的升级产品，溶解性提高，荧光信号更稳定                     |
| M4063  | MitoScene™ Green I (线粒体绿色荧光探针)    | 线粒体绿色荧光探针，不依赖膜电位，活细胞染料，nM水平标记                      |
| M4064  | MitoScene™ Green II (线粒体绿色荧光探针II) | M4064是M4063升级款                                     |
| M4067  | MitoScene™ Red CMXRos (线粒体红色荧光探针) | 线粒体红色荧光探针，依赖膜电位，细胞染色后可固定                           |
| M4045  | MitoScene™ Far-red (线粒体远红外荧光探针)   | 可在线粒体中积累，方便用于检测细胞凋亡过程中线粒体膜电位的变化                    |
| N4002  | NAO（苾基吡啶橙）                        | 可在活细胞中用作线粒体荧光探针，也能对线粒体进行定位研究以及监测线粒体的完整性            |
| R4056  | Rhodamine 123 (罗丹明123)            | 可用于培养的细胞或从组织中线粒体的膜电位的检测                            |
| T4057  | TMRE (四甲基罗丹明乙酯)                   | 依赖线粒体膜电位，活细胞染料                                     |
| T4058  | TMRM (四甲基罗丹明甲酯)                   | 依赖线粒体膜电位，活细胞染料                                     |
| D4015  | DASPEI线粒体荧光探针                     | 苯乙烯基红色荧光染料，可以染色活细胞的线粒体                             |