

JC-10 线粒体膜电位检测试剂盒

Cat NO：IMFP-C004

产品描述

JC-10 是一种广泛用于检测线粒体膜电位 $\Delta\Psi_m$ 的理想荧光探针。可以检测细胞、组织或纯化的线粒体膜电位。JC-10 是一种新型的用来监测线粒体膜电位变化的荧光探针，是 JC-1 的优越替代物。与 JC-1相比，具有以下几个重要优势：①溶解性得以改良——在水溶液中形成沉淀可能性明显降低；②使用更方便——简化步骤将手动操作时间最小化；③荧光信号更高——改良的信号与背景荧光的信噪比；④结果更稳定——优化探针以保证更连续性和稳定性结果。

JC-10 是一种替换JC-1，用于检测线粒体膜电位 $\Delta\Psi_m$ 的理想荧光探针。JC-10 以电势依赖性的方式积聚在线粒体内，可以用来检测细胞、组织或纯化的线粒体膜电位。正常线粒体内，JC-10 聚集在线粒体基质中形成聚合物，聚合物发出强烈的红色荧光（Ex=540nm, Em=590nm）；不健康的线粒体由于膜电位的下降或丧失，JC-10 只能以单体的形式存在于胞浆中，产生绿色荧光（Ex=490 nm, Em=525 nm）。本试剂盒提供 CCCP 用作线粒体膜电位丧失的阳性对照。对于六孔板样品，本试剂盒可检测 100 个样品。

产品信息

表 1.产品信息

产品名称	产品规格	储存条件	保质期
JC-10 线粒体膜电位检测试剂盒	20T/50T/100T	-20℃	12 个月

表 2.组成信息(以 100T 为例)

产品名称	产品规格	储存条件
JC-10（200×）	5×100 uL	-20℃避光，避免反复冻融
JC-10 染色缓冲液（5×）	80 mL	-20℃或 4℃
超纯水	90 mL	-20℃或 4℃

CCCP (10mM)	20 uL	-20℃
说明书	1 份	

产品优势

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。

使用说明

1、JC-10 染色工作液制备(以 100T 为例)

对于六孔板，本试剂盒可检测 100 个样品。每孔所需 JC-10 染色工作液的量为 1mL，其他培养器皿的 JC-10 染色工作液的用量以此类推；对于细胞悬液每 50~100 万细胞需 0.5mL JC-10 染色工作液。取适量 JC-10 (200×)，按照每 50 μL JC-10 (200×) 加入 8mL 超纯水的比例稀释 JC-10。剧烈震荡充分溶解并混匀 JC-10。然后再加入 2mL JC-10 染色缓冲液 (5×)，混匀后即为 JC-10 染色工作液。

【注意】：必须先把 JC-10 (200×) 用超纯水（试剂盒提供）充分溶解混匀后，才可加入 JC-10 染色缓冲液 (5×)。不可先配制 JC-10 染色缓冲液 (1×) 再加入 JC-10 (200×)，这样 JC-10 会很难充分溶解，会严重影响后续的检测。

2、阳性对照的设置

CCCP (10mM) 推荐按 1 : 1000 的比例加入到细胞培养液中，稀释至 10 μM，处理细胞 20min。随后按照下述方法装载 JC-10，进行线粒体膜电位的检测。对于大多数细胞，通常 10μM CCCP 处理 20 min 后线粒体的膜电位会完全丧失，JC-1 染色后观察应呈绿色荧光；而正常的细胞经 JC-10 染色后应显示红色荧光。对于特定的细胞，CCCP 的作用浓度和作用时间可能有所不同，需自行参考相关文献资料决定。

3、对于悬浮细胞

- ①取 10~60 万细胞，重悬于 0.5mL 细胞培养液中，细胞培养液中可以含血清和酚红。
- ②加入 0.5mL JC-10 染色工作液，颠倒数次混匀。细胞培养箱中 37℃ 孵育 20min。



③孵育期间，按照每 1mL JC-10 染色缓冲液（5×）加入 4mL 蒸馏水的比例，配制适量的 JC-10 染色缓冲液（1×），并放置于冰浴。

④37℃孵育结束后，600×g 4℃离心 3~4min 沉淀细胞。弃上清，注意尽量不要吸除细胞。

⑤用 JC-10 染色缓冲液（1×）洗涤 2 次：加入 1mL JC-10 染色缓冲液（1×）重悬细胞，600×g 4℃离心 3~4min 沉淀细胞，弃上清。再加入 1mL JC-10 染色缓冲液（1×）重悬细胞，600×g 4℃离心 3~4min 沉淀细胞，弃上清。

⑥再用适量 JC-1 染色缓冲液（1×）重悬后，用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察，也可以用荧光分光光度计检测或流式细胞仪分析。

4、对于贴壁细胞

【注意】：对于贴壁细胞，如果希望采用荧光分光光度计或流式细胞仪检测，可以先收集细胞，重悬后参考悬浮细胞的方法进行检测。

①对于六孔板的一个孔，吸除培养液，根据具体实验如有必要可用 PBS 或其它适当溶液洗涤细胞一次，加入 1mL 细胞培养液。细胞培养液中可以含有血清和酚红。

②加入 1mL JC-10 染色工作液，充分混匀。细胞培养箱中 37℃孵育 20min。

③孵育期间，按照每 1mL JC-10 染色缓冲液（5×）加入 4mL 蒸馏水的比例，配制适量的 JC-10 染色缓冲液（1×），并放置于冰浴。

④37℃孵育结束后，吸除上清，用 JC-10 染色缓冲液（1×）洗涤 2 次。

⑤加入 2mL 细胞培养液，培养液中可以含有血清和酚红。

⑥荧光显微镜或激光共聚焦显微镜下观察。

注意事项

1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

3、荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。

4、JC-10（200×）在 4℃、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管管底、管壁或管盖内，可以 20~25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。



- 5、装载完 JC-10 后用 JC-10 染色缓冲液（1×）洗涤时，使 JC-10 染色缓冲液（1×）保持 4℃左右，此时洗涤效果较好。
- 6、JC-10 探针装载完并洗涤后尽量在 30min 内完成后续检测。在检测前需冰浴保存。
- 7、请勿把 JC-10 染色缓冲液（5×）全部配制成 JC-10 染色缓冲液（1×），本试剂盒使用过程中需直接使用 JC-10 染色缓冲液（5×）。
- 8、如果发现 JC-10 染色缓冲液（5×）中有沉淀，必须全部溶解后才能使用，可在 37℃ 加热促进溶解。
- 9、CCCP 为线粒体电子传递链抑制剂，有毒，请注意小心防护。

