

pH 荧光探针 (绿 500, SE)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS0203	pH 荧光探针 (绿 500, SE)	1mg

产品简介:

pH 荧光探针是一种 pH 敏感型荧光染料, 其荧光强度随环境 pH 值变化而显著改变。染料在细胞外不发荧光, 在酸性室 (如吞噬体、溶酶体和内体) 中荧光信号显著增强, 而在中性或碱性环境中, 荧光较弱。pH 荧光探针使得能够特异性检测细胞酸性室, 从而在成像或流式分析中降低信号变异性并提高准确性。

产品特性:

- 1) 分子量: 539.54
- 2) 外观: 橙色固体
- 3) 溶解度: 在 DMSO 中溶解
- 4) Ex(nm): 445
- 5) Em(nm): 503

保存条件:

-20°C避光保存, 2 年有效。

产品使用: (仅供参考)

一、储备液的配制

以下配制好的储备液请按照每次实验用量进行分装, 并储存在-20°C, 避免反复冻融。

1. 蛋白质标记储备液 (溶液 A)

将 100 μ L 反应缓冲液 (例如: pH 值~9.0 的 1M 碳酸钠溶液或 1M 磷酸盐缓冲液) 与 900 μ L 目标蛋白质溶液 (例如: 浓度>2mg/mL 的抗体、蛋白) 混合, 得到 1mL 蛋白质标记储备液 (溶液 A)。

【注意】

- a) 蛋白质标记储备液 (溶液 A) 的 pH 应为 8.5 ± 0.5 。如果溶液 A 的 pH 值低于 8.0, 请使

用 1M 碳酸氢钠溶液或 1M pH9.0 磷酸盐缓冲液将 pH 值调节至 8.0-9.0 范围。

- b) 蛋白质应溶解在 1×磷酸盐缓冲液(PBS) (pH7.2-7.4) 中。如果蛋白质溶解在 Tris 或甘氨酸缓冲液中, 则必须用 1×PBS (pH7.2-7.4) 进行透析, 去除用于蛋白质沉淀的游离胺或铵盐 (例如硫酸铵和醋酸铵)。
- c) 不纯的抗体或用牛血清白蛋白(BSA)或明胶稳定的抗体标记效果不好。叠氮化钠或硫柳汞的存在也可能干扰标记反应, 叠氮化钠或硫柳汞可通过透析或离心柱去除, 以获得最佳标记结果。
- d) 如果目标蛋白质浓度低于 2mg/mL, 结合效率会降低。为了获得最佳标记效率, 建议目标蛋白质浓度范围为 2-10mg/mL。

2. pH Green SE 储备液 (溶液 B)

将无水 DMSO 加入到 pH Green SE 中, 制成 10mM 储备溶液 (溶液 B), 通过吹打或涡旋充分混合。

【注意】溶液 B 请尽量现配现用, 在避光防潮条件下, 溶液 B 可在-20°C保存两周, 避免反复冻融。

二、标记步骤

1. 标记反应 (以标记山羊抗小鼠 IgG 为例)

【注意】每种蛋白质都需要不同的染料/蛋白质比例, 这也取决于染料的特性。蛋白质的过度标记可能会对其结合亲和力产生不利影响, 而低染料/蛋白质比率的蛋白质结合物会降低其灵敏度。

- a) 使用摩尔比为 10:1 的溶液 B (染料) /溶液 A (蛋白质) 作为起始条件: 将 5μL 溶液 B (假设其染料浓度 10mM) 加入到装有 95μL 溶液 A 的离心管中, 并充分摇匀。假设蛋白质浓度为 10mg/mL, 蛋白质的分子量为~200KD, 则蛋白质浓度为~0.05mM。

【注意】我们建议使用溶液 B (染料) /溶液 A (蛋白质) 摩尔比为 10:1 的溶液。如果比例太低或太高, 则请分别在 5:1、15:1 和 20:1 的摩尔比条件下, 确定最佳染料/蛋白质比例。

- b) 继续在室温下搅拌或摇动反应混合物 30-60 分钟。

2. 纯化 (以使用 SephadexG-25 柱纯化染料-蛋白质结合物为例)

- a) 根据制造商说明书准备 SephadexG-25 柱。
- b) 将上述反应混合物装载到 SephadexG-25 柱的顶部。
- c) 当样品刚好流到顶部树脂表面下方时, 立即添加 PBS (pH7.2-7.4)。
- d) 向所需样品中添加更多 PBS(pH7.2-7.4) 以完成柱纯化。将含有染料-蛋白质结合物的各

部分混合在一起。

【注意】若要立即使用，染料-蛋白质结合物需要用染色缓冲液稀释，分装后使用；若要长期保存，染料-蛋白质结合物溶液需要浓缩或冷冻干燥处理。

注意事项：

1. 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。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS0202</u>	<u>pH 荧光探针 (绿 500)</u>	1mg
<u>NBS0203</u>	<u>pH 荧光探针 (绿 500, SE)</u>	1mg
<u>NBS0204</u>	<u>pH 荧光探针 (绿 500-Dextran, 检测胞吞作用)</u>	1mg
<u>NBS0205</u>	<u>pH 荧光探针 (绿 500-PEG12 马来酰亚胺)</u>	1mg
<u>NBS0206</u>	<u>pH 荧光探针 (绿 500-乳胶微珠偶联物)</u>	1ml
<u>NBS0208</u>	<u>pH 荧光探针 (红 600)</u>	1mg
<u>NBS0209</u>	<u>pH 荧光探针 (红 600, SE)</u>	1mg
<u>NBS0210</u>	<u>pH 荧光探针 (红 600- Dextran, 检测胞吞作用)</u>	1mg
<u>NBS0211</u>	<u>pH 荧光探针 (红 600-PEG12 马来酰亚胺)</u>	1mg
<u>NBS0214</u>	<u>pH 荧光探针 (红 600-乳胶微珠偶联物)</u>	1ml
<u>NBS0215</u>	<u>pH 荧光探针 (蓝 450, 酸)</u>	1mg
<u>NBS0216</u>	<u>pH 荧光探针 (蓝 450, NHS 酯)</u>	1mg
<u>NBS0217</u>	<u>pH 荧光探针 (蓝 450, 马来酰亚胺)</u>	1mg