

pH 荧光探针 (红 600, SE)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS0209	pH 荧光探针 (红 600, SE)	1mg

产品简介:

pH Red 荧光染料展现出独特的 pH 依赖性荧光特性。与大多数在碱性条件下荧光更强的传统染料不同, 该染料在酸性环境中荧光信号会显著增强。当 pH 值从中性降至酸性范围时, 其荧光强度呈现急剧上升的趋势

pH Red 在细胞外仅表现出微弱荧光, 这一特性使得实验过程中可能无需洗涤步骤, 大大简化了操作流程。pH Red 染料为监测内体、溶酶体等酸性细胞区室提供了强有力的研究工具。虽然它在细胞外荧光较弱, 但在吞噬体、溶酶体和内体等酸性环境中荧光会显著增强。这种特性使 pH Red 能够特异性地检测细胞内的酸性区室, 同时降低信号变异, 显著提高了成像和流式检测的准确性。此外, 该染料还可与 GFP、Fluo-8、钙黄绿素或 FITC 标记抗体等绿色荧光染料配合使用, 实现细胞多功能分析。

pH Red 600, SE (琥珀酰亚胺酯衍生物) 可轻松与各类生物分子偶联, 用于成像或流式检测, 实现对吞噬作用和内吞作用的高精度、低变异特异性检测。这些偶联物同样适用于与绿色荧光染料 (如 GFP、Fluo-8、钙黄绿素或 FITC 标记抗体) 联用, 进行多功能细胞分析。

产品特性:

- 1) 分子量: 953.06
- 2) 外观: 黑色固体
- 3) 溶解度: 在 DMSO 中溶解
- 4) Ex(nm): 576
- 5) Em(nm): 579

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

(所有未使用的储存液应在配制后分装成单次使用量，并于-20°C 保存。避免反复冻融。)

1. 蛋白储存液 (溶液 A)

将 100 μ L 反应缓冲液 (如 1M 碳酸钠溶液或 pH~9.0 的 1M 磷酸盐缓冲液) 与 900 μ L 目标蛋白溶液 (如抗体，蛋白浓度建议 > 2 mg/mL) 混合，配制 1 mL 蛋白标记储存液。

注意：

- 蛋白溶液 (溶液 A) 的 pH 值应为 8.5 ± 0.5 。若 pH 低于 8.0，需使用 1M 碳酸氢钠溶液或 pH 9.0 的 1M 磷酸盐缓冲液调节至 8.0-9.0 范围。
- 蛋白应溶解于 1X 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.2-7.4) 中。若蛋白溶解于 Tris 或甘氨酸缓冲液，必须用 1X PBS (pH 7.2-7.4) 透析以去除游离胺类或铵盐 (如硫酸铵、醋酸铵等蛋白沉淀常用试剂)。
- 含杂质抗体或用牛血清白蛋白 (BSA)、明胶稳定的抗体标记效果不佳。叠氮化钠或硫柳汞可能干扰偶联反应，建议通过透析或离心柱去除以获得最佳标记效果。
- 蛋白浓度低于 2 mg/mL 会显著降低偶联效率，推荐最终蛋白浓度为 2-10 mg/mL。

2. pH Red 600, SE 储存液 (溶液 B)

向 pH Red 600, SE 瓶中加入无水 DMSO，配制 10 mM 储存液，通过移液或涡旋混匀。

注意：

- 溶液 B 需在偶联反应前新鲜配制并立即使用。长期储存可能导致染料活性下降。
- 避光防潮条件下，溶液 B 可于冷冻保存两周，但需避免反复冻融。

二、标记步骤

1. 标记反应 (以标记山羊抗小鼠 IgG 为例)

本操作方案专为 pH Red 600, SE 与山羊抗小鼠 IgG 的偶联反应而设计。针对其他特定蛋白可能需另行优化。

注意： 每种蛋白所需染料/蛋白比例各异，该比例还取决于染料特性。过量标记会损害蛋白结合活性，而标记比例过低则会导致检测灵敏度下降。

2. 进行偶联反应

- 建议以 10:1 摩尔比 (溶液 B 染料/溶液 A 蛋白)，取 95 μ L 蛋白溶液 (溶液 A，假设蛋白浓度为 10 mg/mL，分子量~200 KD，则蛋白浓度约 0.05 mM) 加入 5 μ L 染料储存液

(溶液 B, 10 mM), 充分振荡混匀

- b) 若 10:1 比例效果不佳, 可测试 5:1、15:1 及 20:1 等不同比例以确定最佳标记条件。
- c) 室温下持续旋转或振荡反应混合物 30-60 分钟。

3. 偶联物纯化 (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。

实验结果:

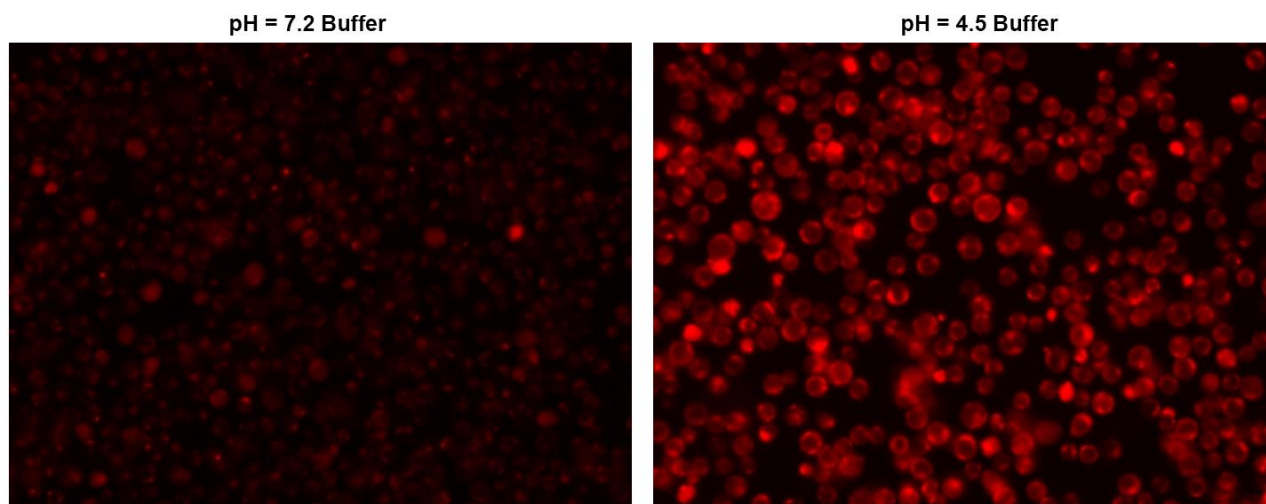


图. 用 pH Red 600, SE 染色的活 Jurkat 细胞图像。活 Jurkat 细胞用 HHBS 洗涤两次, 然后用 10 μ M pH Red 600, SE 染色 30 分钟。随后, 细胞再次用 HHBS 洗涤, 并重悬于 pH 4.5 缓冲液或 pH 7.2 缓冲液中。图像在配有 TRITC 滤光片的荧光显微镜下拍摄。

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