

pH 荧光探针 pHrobe Red,马来酰亚胺(同 pHrodo Red 马来酰亚胺, 胞吞检测)

产品编号: MB12696

包装规格: 1mg

产品形式: 固体

分子量: 953.06

产品简介: pH 荧光探针 pHrobe 系列是 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。在酸性条件下(如溶酶体、内吞体或线粒体内膜), 荧光信号显著增强; 而在中性或碱性环境中, 荧光较弱。这一特性使其成为监测细胞内 pH 动态变化的理想工具。pH 荧光探针 pHrobe Red,马来酰亚胺(同 pHrodo Red 马来酰亚胺, 胞吞检测)是 pH 荧光探针 pHrobe Red (美仑生物 MB12687) 的巯基反应性马来酰亚胺形式, 可用于标记含巯基的蛋白质、抗体或其它生物分子, 也可与葡聚糖或乳胶珠结合以研究内吞途径。

别名: pH Fluorescent Probe pHrobe Red, maleimide

物理性状及指标:

外观:黑色固体
溶解度:在 DMSO 中溶解
Ex(nm):576
Em(nm):597

产品用途: 科研试剂, 广泛应用于细胞生物学、分子生物学、药理学等科研方面, 严禁用于人体。本产品常用于溶酶体功能、细胞吞噬与内吞作用、药物递送与细胞毒性、肿瘤微环境等研究。

储存条件: -20℃ 保存, 避光防潮密闭干燥

运输条件: 湿冰运输

使用方法: (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℃, 避免反复冻融。

1. 蛋白质标记储备液 (溶液 A)

将 100μL 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 900μL 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】

(1) 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 pH 9.0 磷酸盐缓冲液将 pH 值调节至 8.0-9.0 范围。

(2) 蛋白质应溶解在 1×磷酸盐缓冲液(PBS) (pH 7.2-7.4) 中。如果蛋白质溶解在 Tris 或甘氨酸缓冲液中, 则必须用 1×PBS (pH 7.2-7.4) 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)。

(3) 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。

(4) 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. pHrobe Red SE 储备液 (溶液 B)

将无水 DMSO 加入到 pHrobe Red 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℃ 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和产生不利影响, 而低染料/蛋白质比率的蛋白质结合物会降低其灵敏度。



(1) 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 5 μ L 溶液 B (假设其染料浓度 10mM) 加入到装有 95 μ L 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。

(2) 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 Sephadex G-25 柱纯化染料-蛋白质结合物为例)

(1) 根据说明书准备 Sephadex G-25 柱。

(2) 将上述反应混合物装载到 Sephadex G-25 柱的顶部。

(3) 当样品刚好流到顶部树脂表面下方时, 立即添加 PBS (pH 7.2-7.4)。

(4) 向所需样品中添加更多 PBS (pH 7.2-7.4) 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。

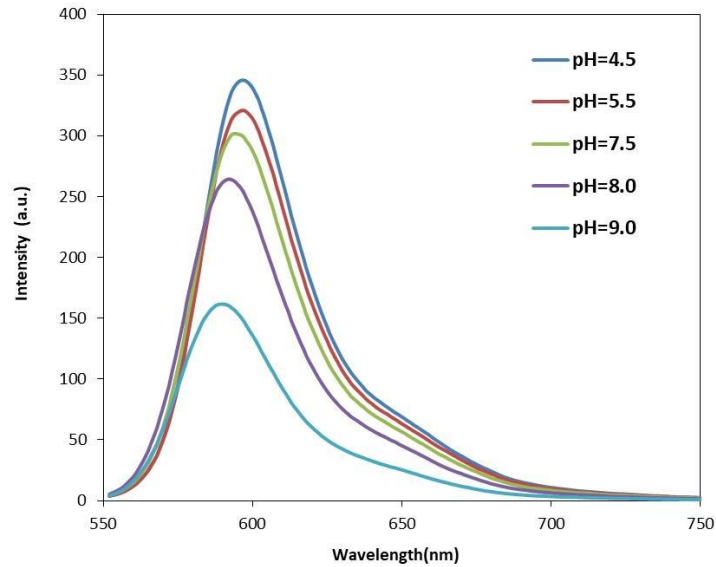


图 1. pHrobe Red 的 pH 依赖性发射光谱

【注意】

- 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。
- 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, 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。
- 部分产品我司仅提供部分信息, 我司不保证所提供信息的权威性, 以上数据仅供参考交流研究之用。

S260401

