

pH630 Deep Red anti-human labeling reagent

标记试剂产品说明书

产品简介

启和医疗推出的 pH 敏感性 pH630 Deep Red anti-human labeling reagent 标记试剂能够对抗体进行快速、可扩展且高效的内化标记，其配套的 pH 染料标记抗体试剂盒专为便捷快速地标记测试抗体制备，通过偶联 pH 敏感荧光基团可精准量化标记抗体的内吞过程；该系统依托溶酶体的酸性环境发挥作用，当 pH 染料标记的抗体处于 pH 7.4 的中性细胞外液时，可与细胞表面特异性抗原结合并被内吞，进入 pH 4.5-5.5 的溶酶体酸性环境后荧光强度会显著增强，而在细胞缺乏特异性抗原表达的情况下，内吞作用不会发生，标记抗体的荧光强度维持在较低水平，从而最大程度降低背景荧光，因此该 pH 染料作为一种优质的低背景抗体标记染料，已在多种细胞类型及不同抗体的实验中获得成功应用。

产品信息

货号	产品名称	浓度	Ex/Em(nm)	产品包装
QH-17-1003	pH630 Deep Red anti-human labeling reagent	0.5 mg/mL	640/655	200 μ l

产品规格储存

- 存储缓冲液成分：10 mM 磷酸盐缓冲液（PBS，pH 7.4），含 50% 甘油。
 - 存储：试剂需在 4°C 避光环境下保存，自收货之日起稳定期不少于 6 个月；
- 注意事项：避免反复冻融，开启后尽快使用，剩余试剂需严格按储存条件密封保存。

推荐使用方法

1. 储存液制备

- 向冻干染料中加入 100 μ L 无菌水，制备浓度为 0.5 mg/mL 的储备液，轻柔吹打混匀（溶液不澄清时可离心），禁止超声处理。储备液可直接稀释到含检测抗体的标记混合物中。

2. 快速操作指南

- 细胞铺板：将细胞以 50 μL / 孔的体积铺于 96 孔板，细胞密度为 5000-30000 个 / 孔，静置 2-24 小时（根据细胞类型调整）使细胞贴壁；
- 抗体标记：在培养基中按 1:2 的摩尔比混合检测抗体与染料试剂（浓度为最终检测浓度的 2 倍），37°C 孵育 15 分钟完成偶联；
- 向细胞中加样：将抗体-染料混合物以 1 \times 工作浓度加入细胞培养孔中，37°C 孵育 6~24 小时。
- 活细胞荧光成像：使用合适的荧光成像系统观察抗体内吞情况。

实验操作步骤

1. 靶细胞准备

- 确保靶细胞状态良好（无污染、活性 $\geq 90\%$ ），用适宜的细胞培养基充分稀释混匀；
- 向 96 孔细胞培养板中加入细胞悬液，每孔 100 μL ，细胞密度控制在 3000~6000 个 / 孔（需根据细胞生长速率调整：生长快的细胞可适当降低密度，生长慢的细胞可提高密度）；
- 轻轻晃动培养板使细胞均匀分布，待细胞自然沉降后，转移至 37°C、5% CO_2 培养箱中孵育，直至细胞铺板密度达到 50% 左右（最适检测状态，通常需 2~24 小时，具体时间因细胞类型而异）。

2. 抗体标记操作

- 混合反应：按“待测抗体：标记染料 = 1:2”的摩尔比混合（推荐用量：10 μg 待测抗体 + 2 μg 标记染料），可直接混合纯品（无需提前稀释），室温下避光孵育 20 分钟；
- 注：待测抗体浓度范围为 0.1~10 mg/mL ，抗体原有缓冲液不影响标记反应，无需更换缓冲液。
- 工作液配置：用细胞培养基将上述“抗体 - 染料复合物”稀释，使待测抗体终浓度达到 3 $\mu\text{g/mL}$ （约 20 nM ），轻轻吹打混匀；

注：根据实验需求，待测抗体终浓度可调整为 5~100 nM ，需确保稀释后溶液均匀无沉淀。

3. 抗体内吞反应

- 从培养箱中取出已准备好的靶细胞板，吸弃原有培养基（或直接加入工作液，根据细胞耐受度选择）；
- 向每孔加入 100 μL 配制好的“抗体 - 染料复合物工作液”，轻轻敲击板壁使液体均匀覆盖细胞；
- 将细胞板放回 37°C、5% CO_2 培养箱中孵育 6~24 小时。

注：不同靶点、不同细胞的内吞效率差异较大，建议设置梯度孵育时间（如 6 h、12 h、24 h），筛选

最佳检测时间：用户可根据实验需求及实际情况设计对照及复孔。

4. 细胞成像与分析

- 孵育结束后，取出细胞板，轻轻吸弃孔内工作液（可选，部分成像系统支持直接观察），用 PBS 轻轻洗涤细胞 1~2 次（去除未结合的游离染料，降低背景）；
- 观察细胞生长情况,检测细胞内荧光变化。检测内吞时荧光的增加可通过多种技术实现,包括细胞成像、流式细胞仪和荧光平板阅读器。

注意事项

- 储存及使用期限：试剂需在 4℃避光环境下保存，自收货之日起稳定期不少于 6 个月；需注意避免反复冻融，开启后尽快使用，剩余试剂需严格按储存条件密封保存。
- 荧光保护要求：所有荧光染料均存在淬灭特性，实验全程请注意避光操作，以减缓荧光淬灭速度，保障检测效果。
- 产品使用限制：本产品仅供专业人员进行科学研究使用，严禁用于临床诊断、治疗、食品及药品领域，且不得在普通住宅内存放。
- 操作安全规范：为保障您的安全与健康，操作时请穿戴实验服并佩戴一次性手套。