

产品组成:

规格	50T	100T	储存条件
组份 A: 细胞内 pH 荧光探针 P01	50ul	50ul*2	-20℃避光
组份 B: 稀释液	10ml	10ml	2-8℃

储存条件:

2-8℃ 避光 探针长期不用-20℃保存。避免反复冻融。

注意事项:

1. 探针长期不用可以-20℃保存。避免反复冻融。
2. 探针为 DMSO 溶液，冬季气温较低时为凝固状态，极易粘附在管壁、吸头壁。注意需要加热融解，变成液体状态后离心至管底部再开盖。
3. 可以用手捂住使其融解或 37℃短时间水浴。吸头也需要放在培养箱预热，否者容易再次凝固在吸头内壁产生损耗。
4. P01 探针容易受潮，受潮后稳定性较差，注意干燥保存。
5. 吸取 P01 探针母液时要用干燥的新吸头，不能使用含水的吸头。
6. 未使用完的 P01 探针母液请拧紧螺旋盖，避免受潮失效。

有效期:

六个月。

产品简介:

细胞内 pH (Intracellular pH, pHi) 是酶活性和细胞功能的重要生理决定因素，所有蛋白质都依赖于严格调节的 pH 值以维持其结构和功能。质子 - 去质子化可以指示生物表面的电荷，并且是许多代谢反应中的组成部分。此外，跨线粒体膜的质子梯度用于产生细胞能量并支持其他线粒体过程。因此，细胞已经开发出多种机制来保持 pHi 的窄范围，以响应 pH 值的细胞内和细胞外波动。

细胞内 pH 值检测试剂盒采用 P01 细胞内 pH 值荧光探针检测胞内 pH 值的变化。P01 是 pH 敏感的荧光染料，其在碱性条件下荧光强更高，反之酸性条件下变低，从而 P01 可被用于监测细胞内 pH 变化。

P01 是一种可以穿透细胞膜的荧光染料，P01 本身没有荧光，穿透细胞膜进入细胞后被细胞内的酯酶剪切形成荧光物质，从而被滞留在细胞内。产生的荧光物质最大激发波长为 502nm，最大发射波长为 528nm，其在不同的 pH 值条件下发射的荧光强度不同，从而可以反映细胞内 pH 值得变化情况。

P01 主要用于哺乳动物细胞的研究，也可用于其他动物组织、植物细胞、酵母等的细胞内 pH 水平检测。在有细胞内 pH 变化的细胞毒性、细胞凋亡、细胞粘附、药物抵抗、细胞趋化等过程中也可应用。实际检测时推荐使用的激发波长为 488nm 左右，发射波长为 525~540nm。可以使用激光共聚焦显微镜或流式细胞仪检测细胞内 pH 值的变化。

本试剂盒内 P01 探针母液 500-5000 倍稀释后使用，一般 1000-2000 倍稀释使用即可，按每个样 500ul 计算，50ul 母液至少可以做 100-200 个样品。

本试剂盒主要用于细胞内 pH 值变化的定性检测。但是在一定 pH 值范围内荧光强度与细胞内 pH 有良好的线性关系，据此可以用特定的 pH 值的标准缓冲液制备标准曲线，从而可以换算出细胞内的 pH 值的具体数据。

注意事项:

1. 正式实验前请选取几个样本做预实验，以优化实验条件，取得最佳实验效果。
2. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖和管内壁上的液体离心至管底，避免开盖时试剂损失。
3. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
4. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
5. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿，可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。
6. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。

试剂盒以外自备试剂和仪器:

1. 流式细胞仪或激光共聚焦或荧光显微镜
 2. 离心机
 3. 移液器
 4. 冰箱
 5. 冰盒
1. PBS 缓冲液
 2. HBSS
 3. HEPES
 4. (备选) Nigericin sodium salt
1. 离心管
 2. 吸头
 3. 一次性手套

使用方法:

1. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖内壁上的液体收集至管底，避免开盖时液体洒落。使用前，先将本品取出回温至室温，并对其进行简短离心使 DMSO 溶液集中于管底。
2. pH 探针为 DMSO 溶液，冬季气温较低时在室温时为凝固状态，极易粘附在管壁、吸头壁。注意需要加热溶解，吸头也需要放在培养箱预热，否者容易再次凝固在吸头内壁产生损耗。
3. P01 探针容易受潮，受潮后稳定性较差，注意干燥保存。
4. 吸取 P01 探针母液时要用干燥的新吸头，不能使用含水的吸头。
5. 未使用完的 P01 探针母液请拧紧螺旋盖，避免受潮失效。
6. P01 探针工作液含水，配制后不可以长期保存，须现配现用。
7. 细胞处理需要小心操作，尽量避免人为的损伤细胞。
8. 标记的条件因细胞种类而异，根据同一样本的实际染色结果做相应调整，在每次实验前，请先根据不同的实验要求、细胞类型、细胞的膜通透性等进行优化，确定最佳条件。以下方法仅供参考。
9. 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。
10. 染色后立即进行分析。
11. 可以在染色溶液中加入等体积的 20% Pluronic F127 溶液，Pluronic F127 可以帮助 P01 更快进入细胞，不建议在 Pluronic F127 中长期保存 P01 溶液。
12. 本试剂盒主要用于细胞内 pH 值变化的定性检测。但是在一定 pH 值范围内荧光强度与细胞内 pH 有良好的线性关系，据此可以用特定的 pH 值的标准缓冲液制备标准曲线，从而可以换算出细胞内的 pH 值的具体数据。

染色工作液的配制：

1. 根据样品数，用探针稀释液将 P01 探针进行 10 倍稀释，然后再用 HBSS 缓冲液稀释 P01 溶液 20 倍-200 倍，配制成 P01 染色工作液。
 2. 将 P01 染色工作液加入已处理好的细胞，在 37℃ 孵育 30-60 分钟。
 3. 用 PBS 或 HBSS 洗涤细胞 2-3 次。用 HBSS 重悬细胞。
 4. 然后用该细胞进行荧光细胞内 pH 变化情况检测。
- 激发波长 488-506nm，发射波长 526-536nm。