

## 产品组成:

规格	50T	100T
试剂 A : 细胞膜电位探针	250u1	500u1
试剂 B : 10×检测缓冲液	10ml	20ml

## 储存条件:

膜电位探针 -20℃避光保存, 避免反复冻融。

检测缓冲液 2-8℃保存。

## 有效期:

一年。

## 注意事项:

1. 本试剂盒仅供科学研究使用, 不可用于诊断或治疗。
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。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。
5. 洗并彻底清除残留清洁剂。避免皮肤或粘膜与试剂接触。

## 产品简介:

细胞荧光探针系列 BBcellProbe™ D43 是一种检测细胞膜电位的亲脂性阴离子荧光染料, 它本身无荧光, 当进入细胞与胞浆内的蛋白质结合后才发出荧光。D43 荧光探针进入细胞, 细胞内荧光强度增加, 即膜电位增加表示细胞去极化; 反之, 细胞内荧光强度降低即膜电位降低表示细胞超极化。D43 不受线粒体膜电位影响, 使其能特异性的用于测量细胞膜电位变化。BBcellProbe™ D43 最大吸收波长 490nm, 最大发射波长 516nm。

## 试剂盒以外自备试剂和仪器

PBS、纯水、移液器及吸头离心机

流式细胞仪、荧光显微镜、激光共聚焦、酶标仪、荧光分光光度计等有 488-493nm

激发波长的检测仪器, 检测波长 516-525nm

## 使用方法:

### 使用注意事项:

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。
2. D43 探针在冬天温度较低时会凝固, 可以 20~25℃水浴温育片刻全部融解后离心使用。
3. 细胞处理需要小心操作, 尽量避免人为的损伤细胞。
4. 始终保持平衡染液中 pH 值的一致性, 因为 pH 值的变化将影响膜电位。
5. 与染料达到平衡的细胞悬液中如果含有蛋白, 他们将与部分染料结合, 降低染料的浓度, 引起假去极化。
6. 根据细胞种类、实验条件不同流式细胞仪设置不同。
7. 染色液产生沉淀离心取上清使用即可, 不影响结果。

8. D43 染色并洗涤后尽量在 30 分钟内完成后续检测。在检测前需冰浴保存。
9. D43 染色探针不可以一次性全部配好，应根据每次细胞数量现配现用，长期不用的可以分装后用铝箔纸包好 -20℃冻存。避免反复冻融。以下以活细胞为例，实验步骤仅做参考，具体最佳细胞数量，最佳染色时间，因细胞不同而不同，根据实际情况调整。

#### 细胞准备:

贴壁细胞: 96 孔板, 细胞数量约 40000-80000/孔, 100ul 培养基, 培养过夜。

悬浮细胞: 96 孔板, 细胞数量约 125000-250000/孔, 100ul 培养基, 培养过夜。

#### 组织样本:

组织样本可以用玻璃匀浆器匀浆成单细胞悬液后按照细胞样本的方法检测。也可以用其他细胞悬液制备的试剂盒处理组织后检测。

#### 染色工作液准备:

##### 1、 1X 检测缓冲液配制:

根据样品数按下列比例配制 1X 缓冲液。取 100ul 10×检测缓冲液加 900ul 无菌纯水稀释, 混匀并预热至 37℃, 即成 1×检测缓冲液;

##### 2、 染色工作液的配制

D43 室温或水浴融解, 在 500ul 1×检测缓冲液中加入 5ul BBcellProbe™ D43 细胞膜电位探针, 充分混匀配成 D43 染色工作液;

#### 染色:

- 1、如果是培养板原位检测, 移除培养基, 用 PBS 洗细胞一次, 加入 100ul 染色工作液。
- 2、如果流式检测, 收集样本细胞, 细胞数量在  $2-5 \times 10^5$  个。用 PBS 洗涤细胞两次。离心收集细胞。然后用 500ul D43 染色工作液将细胞重悬。
- 3、加入染色工作液的细胞在培养箱中或者室温孵育 30 分钟-1 小时。
- 4、用流式细胞仪或荧光分光光度计检测分析结果, 或者用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察结果。

#### 结果分析 :

检测时可以把激发光设置为 490nm, 发射光设置为 525nm; 用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察。或者用流式细胞仪、荧光分光光度计或荧光酶标仪检测: 激发波长为 488nm, 发射波长为 525nm。如果激发波长不能设置为 488nm 时, 可以在 488-493nm 范围内设置激发波长。