

## Ready-to-use BCECF AM pH 荧光指示剂 (5 mM)

### 1 产品基本信息

产品名称（中文）：Ready-to-use BCECF AM pH 荧光指示剂 (5 mM)

产品名称（英文）：Ready-to-use BCECF AM pH Indicator (5 mM)

产品编号：MX1437

### 2 规格或纯度

50  $\mu$ L

### 3 产品介绍

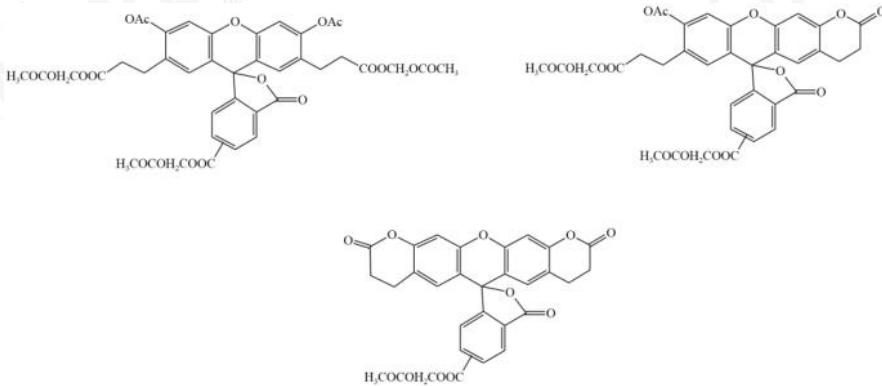
#### 产品简介：

Ready-to-use BCECF AM pH Indicator (5 mM) 是一种可穿透细胞膜检测细胞内 pH 的荧光染料。BCECF, AM 本身无荧光，进入细胞后会被细胞内的酯酶剪切形成 BCECF，进而滞留在细胞内；BCECF 在适宜 pH 值条件下可被激发产生绿色荧光，其最大激发波长和发射波长会随 pH 不同而变化，最大激发波长约为 503 nm，最大发射波长约为 520 nm，实际检测时推荐使用 488 nm 作为激发波长，535 nm 作为发射波长。

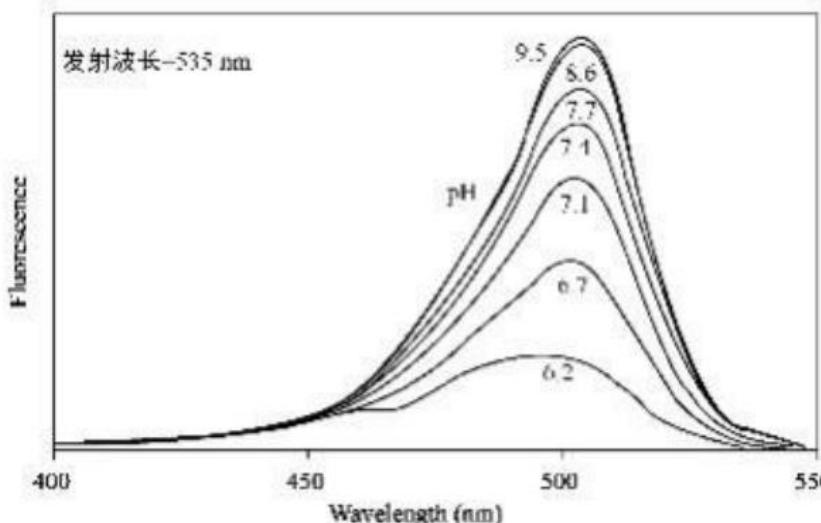
该产品不仅可以广泛应用于哺乳动物细胞研究，还可用于动物组织、植物细胞、细菌和酵母等的体内 pH 水平检测；此外，在细胞毒性、细胞凋亡、细胞粘附、药物抵抗、细胞趋化等涉及细胞内 pH 变化的过程中也有广泛应用。

#### 产品参数：

- 外观：可溶于 DMSO 或 DMF 的白色固体
- Ex/Em)：505/520 nm
- CAS 号：117464-70-7
- 分子式：混合物 (C<sub>30</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub>、C<sub>35</sub>H<sub>28</sub>O<sub>15</sub>、C<sub>40</sub>H<sub>36</sub>O<sub>19</sub>)
- 分子量：688.6
- 分子结构图：



- 光谱图：



### 产品特点：

- 稳定性强：具有良好灵敏度且抗淬灭性好；
- 批间差小：批间差控制良好；
- 使用方便：可搭配我司其它试剂使用，方便灵活。

### 适用范围：

测量大多数细胞的细胞质 pH 变化

## 4 储存与运输

储存条件：-20°C避光保存

运输条件：冰袋运输

## 5 操作步骤（仅供参考）

### ● 细胞染色操作

对于固体状态的 BCECF, AM ester, 使用前需用适当体积的无水 DMSO 溶解，配制成一定浓度的储液，推荐浓度为 5 mM。

- (1) 用 HEPES 缓冲液制备细胞悬液（约  $10^6$  个 /mL）。
- (2) 向细胞悬液中加入 5 mM 的 BCECF AM /DMSO 溶液（加入体积为细胞悬液的 1/1000），使 BCECF, AM 终浓度为 5  $\mu$ M。

注：①血清中可能含有内源性酯酶活性，因此应避免染色液中含有血清；

②脂胺可能会断裂 AM 基团，阻止染料的加载，因此应避免染色液中含有氨基酸。

- (3) 在 37°C 条件下培养 30 min。

- (4) 用 HEPES 缓冲液清洗细胞 2-3 次。

- (5) 使用荧光显微镜或带有图像分析系统的激光扫描共聚焦显微镜检测细胞的荧光强度。

注：标记的条件因细胞种类而异，在每次实验前，请先确定最佳条件。

### ● 组织样本染色操作

组织样本的染色处理方法与哺乳动物细胞染色类似（如大鼠动脉、大鼠唾液腺和胰腺、大鼠肾脏、兔胃腺体等）。

- (1) 处理这些组织样本时，将样本安置在灌注室，建议以 1-5  $\mu$ M 的 BCECF AM 工作浓度配制灌流液，灌注时间为 5-60 分钟；随后用未改性的灌流液（普通灌流液）充分洗涤样本。
- (2) 对于细胞间质的 pH 测量，可通过直接注射 0.2-0.5 mM BCECF 酸的方法获得短暂脉冲；BCECF 酸可通过扩散作用加载到分离的细胞或组织切片中，再通过荧光成像仪成像或用电生理记录仪记录。

## ● 其它类型细胞染色

### (1) 细菌

革兰氏阳性菌和阴性菌均可通过简单的酸休克反应 (0.5 mM BCECF 酸溶于 5 mM 的 HCl 溶液中, 处理细菌细胞 5 分钟) 完成 BCECF 染色。将细菌置于冰上孵育时, 染料可较好地滞留在细胞内, 但在乳糖刺激下会导致电位变化, 进而使染料自胞内快速流出。

### (2) 酵母菌与真菌

尝试用浓度为 10  $\mu$ M 的 BCECF AM 孵育细胞, 但结果显示染料对这两种菌的染色效果不理想, 可能原因是酵母细胞内的酯酶水解效率较低, 且在 *Neurospora Crassa* 真菌内染料分布不均匀, 导致出现空泡堆积。

### (3) 植物

培养悬浮原生质体 ( $2 \times 10^6$  cells/mL) 时, 利用低浓度 (10 nM) 的 BCECF AM 染料可在胞内均匀分布; 而将高浓度 (3  $\mu$ M) 的 BCECF, AM 加载到玉米根毛细胞中, 结果显示染料基本富集于液泡中。

## 6 注意事项

- 本产品对人体有害, 操作时请小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 本产品在 4°C、冰浴等较低温度条件下会凝固, 粘在离心管管底、管壁或管盖内, 可置于 20-25°C 水浴中温育片刻, 待其全部溶解后再使用。
- 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。
- 本产品仅限于科研, 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。