

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01182

产品介绍

BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色) 是一种可以穿透细胞膜检测细胞内 pH 的荧光染料。BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色) 没有荧光, 进入细胞后可以被细胞内的酯酶剪切形成 BCECF, 从而被滞留在细胞内, BCECF 在适当的 pH 值条件下可以被激发形成绿色荧光, 最大激发波长和发射波长因 pH 的不同而有所不同, 最大激发波长在 503 nm 左右, 最大发射波长在 520 nm 左右, 实际检测时推荐使用的激发波长为 488 nm, 发射波长为 535 nm。

BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色) 不仅被广泛用于哺乳动物细胞的研究, 也用于动物组织、植物细胞、细菌和酵母等的体内 pH 水平检测。此外, 在细胞内有 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 BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色) 也被广泛应用。

应用范围

测量大多数细胞的细胞质 pH 变化

储运条件

-20 °C 避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

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: 产品为公司自研, 批间差控制的好;

使用方便: 可搭配我司其它试剂使用, 方便灵活。

产品参数

外观: 可溶于 DMSO 或 DMF 的白色固体

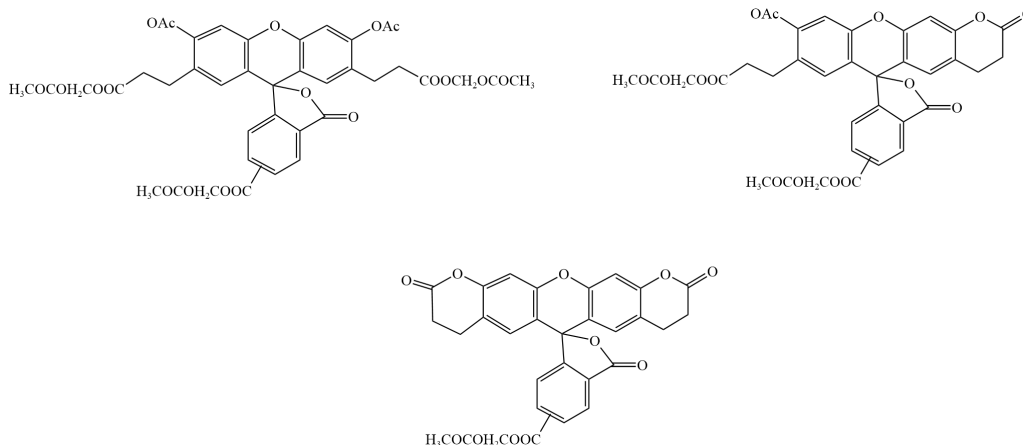
Ex/Em: 505/520 nm

CAS 号: 117464-70-7

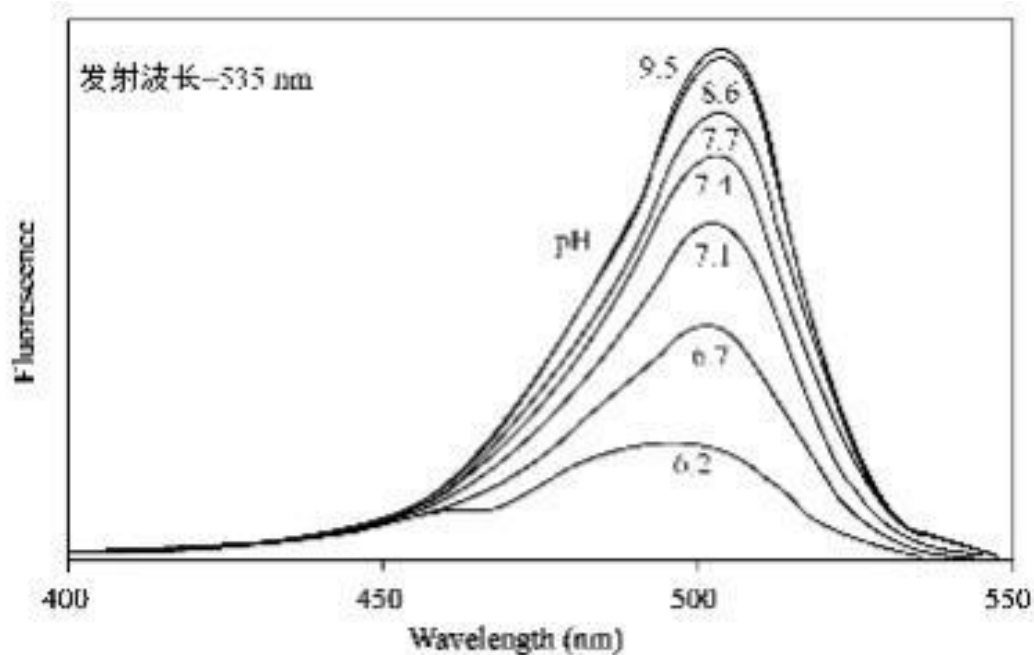
分子式: 混合物 (C₃₀H₂₀O₁₁, C₃₅H₂₈O₁₅, C₄₀H₃₆O₁₉)

分子量: 688.6

分子结构图:



光谱图:



注意事项

1. BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色) 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。
2. BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色) 在 4 °C、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管管底、管壁或管盖内, 可以 20~25 °C 水浴温育片刻至全部溶解后使用。
3. 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。
4. 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。

自备材料

1. 试剂

- (1) 5 mM 的 BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色)
- (2) HEPES 缓冲液 (20 mM HEPES, 153 mM NaCl, 5 mM KCl, 5 mM glucose, pH 7.4)
- (3) DMSO

操作步骤

1. 细胞染色操作

对于固体状态的 BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色), 使用前请用适当体积的无水 DMSO 溶解配制成一定浓度的储液, 推荐浓度为 5 mM。

- (1) 用 HEPES 制备细胞悬液 (~10⁶ 个 /mL)。
- (2) 将 5 mM 的 BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色) /DMSO 溶液加入细胞悬液中 (细胞悬液的 1/1000 体积), BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色) 终浓度为 5 μ 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 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。以上方法仅供参考。

2. 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，比如大鼠动脉、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 μ M 的 BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色) 工作浓度配制好灌流液，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，可以通过直接注射 0.2~0.5 mM BCECF 酸的方法，获得一个短暂的脉冲。BCECF 酸可以通过扩散作用被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。

3. 其它类型细胞染色

(1) 细菌

革兰氏阳性菌和阴性菌都可以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) 从而完成 BCECF 染色。置于冰上孵育时，染料可以很好地滞留在细胞内，但在乳糖的刺激下可以导致电位变化，继而导致染料自胞内快速流出。

(2) 酵母菌与真菌

尝试用浓度为 10 μ M 的 BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色) 的孵育细胞，但结果显示染料对这两种菌的染色效果并不理想，可能是由于酵母细胞内的酯酶水解效率较低，在 *Neurospora Crassa* 真菌内染料不均匀分布，导致出现空泡堆积。

(3) 植物

培养悬浮原生质体 (2×10^6 cells/mL)，利用低浓度 (10 nM) 的 BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色)，染料在胞内均匀分布，而高浓度 (3 μ M) 的 BCECF AM pH 荧光指示剂 (5mM, 绿色) 加载到玉米根毛细胞中，结果显示染料基本富集于液泡中。