

BCECF, AM pH 荧光探针

产品简介

BCECF AM 是一种广泛使用的检测细胞质 pH 值的荧光探针。具有细胞膜渗透性, 进入细胞后被胞内酯酶 水解生成 BCECF, 一种极性荧光衍生物从而被保留在细胞内。BCECF 在细胞内很稳定, 排出半衰期超过 2 小时。胞内 pH 测定通过比率成像实现, 通过确定 pH 依赖性的发射光强度比率 ($\text{Ex}=535\text{nm}$), 分别用 490nm 激发光激发和 440nm 激发光激发, 使用荧光分光光度法 (spectrofluorometry) 或流式细胞仪检测皆可。BCECF, AM 虽然主要用于哺乳动物细胞, 也有报道用于植物细胞、细菌和酵母等的细胞 pH 水平检测。BCECF, AM 还被广泛用于各种功能实验, 如细胞活力和毒性、凋亡、粘附、趋化、药物抗性引起的细胞 pH 变化 检测。BCECF, AM 还能用于包括钾离子在内的其他离子的胞内变化检测。

产品组成

名称 编 号	FS1218	FS1218	Storage
BCECF, AM pH 荧光探针	1mg	5mg	-20℃干燥避光保存
使用说明书	1 份		

基本特性

CAS: 117464-70-7

化学名: BCECF Acetoxymethyl ester; BCECF AM ester; 2',7'-Bis-(2-Carboxyethyl)-5-(and-6)-Carboxyfluorescein, Acetoxymethyl Ester;

同义名: Spiro(isobenzofuran-1(3H),9'-(9H)xanthene)-2',7'-dipropanoic acid, 3',6'-bis(acetyloxy)-5(or 6) -[[[acetyloxy)methoxy]carbonyl]-3-oxo-, bis[[acetyloxy)methyl] ester

分子式: $\text{C}_{30}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$, $\text{C}_{35}\text{H}_{28}\text{O}_{15}$, $\text{C}_{40}\text{H}_{36}\text{O}_{19}$

分子量: ~688 (三种分子结构的平均分子量)

外观: 黄色或白色固体

溶解性: 溶于 DMSO, DMF

储存条件: -20℃干燥保存, 至少 1 年有效。

使用方法

1、 储存液制备

实验前将低温保存的 BCECF AM 置于室温回温至少 20min。用高质量的无水 DMSO 溶解粉末, 使其充分溶解, 配制成 1-10mM 储存液。按照单次用量分装后置于 $\leq -20^\circ\text{C}$ 避光干燥保存, 六个月稳定。

【注意】: 用水溶性缓冲液或培养基稀释储存液到需要浓度的工作液, 现配现用, 不可保存。正常的 BCECF AM 溶液无色且无荧光 (虽然浅色和弱荧光可接受)。如果溶液呈强荧光和有颜色 (吸光度 $> 400\text{nm}$) 可能含明显剂量的水解产物, 此时溶液需丢弃。

2、 BCECFAM 的加载 (哺乳动物细胞)

大多数哺乳动物细胞不需透化, 直接用稀释的细胞膜渗透 BCECF AM 探针孵育即可加载。一旦进入细胞, 非特异酯酶水解非荧光 AM 前体, 产生荧光且 pH 灵敏的探针。阳离子探针 BCECF 的低泄露率和小的细胞内体积使得探针在胞内的终浓度明显高于胞外孵育浓度。总体而言, 与钙离子探针比如 Fura-2 相比, 以 AM 形式加载的 BCECF 更少出现胞内区域化。大量的实验数据表明 BCECF 在细胞质内是自由流动和解离的。

以下步骤仅作参考, 具体可根据实际情况调整。

1) 制备活细胞悬浮液 (~10⁶ 个细胞/ml)。

【注意】: 贴壁细胞的加载条件基本类似于悬液细胞。培养皿内的贴壁细胞可用生理盐稀释的 BCECF AM 探针浸没。对于生长在盖玻片上的细胞, 轻轻洗掉维持培养基后, 只需将盖玻片转入一含有 BCECF AM 染色液的培养皿内即可。

2) 将适量 1mM BCECF AM 储存液用生理盐缓冲液如 HBSS 稀释 100~500 倍。通常情况, 使用能够获得足够荧光信号的最低浓度 BCECF AM 来加载 (也许低至 0.1 μ M 的加载浓度足够), 这样可以降低 AM 水解的副产物生成, 且有利于更充分的水解。加载培养基必须无氨基酸或缓冲液不含伯胺或仲胺, 因其有可能切割 AM 阻止加载。血清的存在, 有可能含内源性酯酶活性, 也需避免使用, 直至探针已经完全加载好。

3) 取等体积的 BCECF AM 稀释液到制备好的细胞悬液中。于 4°C-37°C 孵育 15-60min。

【注意】: 1) BCECF AM 的起始工作浓度范围是 1~10 μ M, 最佳工作浓度需参考文献或根据实际情况优化。2) 某些研究者报道生理温度比室温孵育产生更高度度的区域化。

4) 用新鲜培养基清洗细胞两次。

注意事项

(1) 化学合成的 BCECF AM 都会以几种不同分子异构体的形式出现, 基本是含三种异构体组分的混合物 (见产品特性)。由于三种异构体的分子量不同, 且每批次所占的比例会有些许差异, 因此, 每个批次的平均分子量会有些许变化。但 BCECF AM 的三种异构体在胞内酯酶水解后都转化成相同的产物 BCECF Acid

(2) 荧光染料都存在淬灭问题, 操作或保存过程中尽量避光, 减缓荧光淬灭。

(3) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。