

## BCECF,AM (pH 荧光探针) (Cell permeant)

### 产品信息

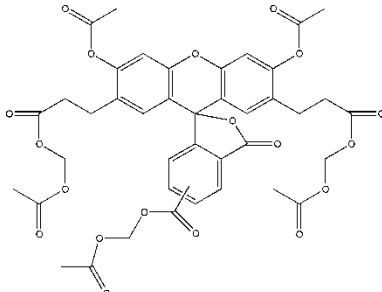
产品名称	货号	规格
BCECF,AM (pH 荧光探针) (Cell permeant)	40701ES50	50 µg
BCECF,AM (pH 荧光探针) (Cell permeant)	40701ES80	20×50 µg

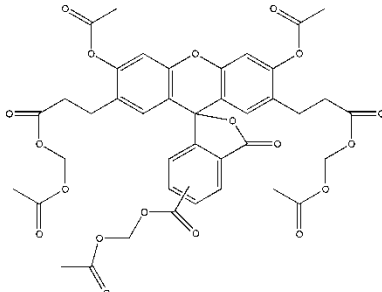
### 产品描述

BCECF 是一种比率型 pH 荧光指示探针, Ex=503 nm, Em=530 nm。联合现代化的荧光成像技术, 使其在涉及 pH 变化的多种实验中得到广泛应用, 如细胞生长调节, 钙调节, 受体介导的信号转导, 铁离子运输内吞等。

BCECF,AM 是 BCECF 基础上引入乙酰甲氧基甲酯 (AM) 基团, 增加了疏水性, 使其能够轻易穿透活细胞膜。BCECF,AM 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 BCECF, 后者被滞留在细胞内, 随 pH 变化发出绿色荧光。

### 产品性质

英文名称 (English synonym)	2',7' -bis-(2-carboxyethyl)-5-(and-6)-carboxyfluorescein
外观 (Appearance)	类白色粉末
分子量 (Mol. Wt.)	808.69
纯度 (Purity)	≥98%
溶解 (Solubility)	溶于 DMSO
Ex/ Em (nm)	503/528 nm
结构式	



### 运输与保存方法

室温运输。-20℃干燥避光保存, 有效期 2 年。

### 注意事项

- 1) 对于微量试剂, 开封前, 请稍微离心一下, 以保证粉末落入管底。
- 2) 由于 BCECF,AM 对湿度非常敏感, 本粉末保存的过程中一定要保持干燥。对于配制好的 BCECF,AM 储存液需要分装冻存, 且必须紧紧密封盖子, 干燥保存。
- 3) BCECF,AM 工作液必须现配现用。
- 4) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

**使用方法**（该方案仅做参考，具体染色时需根据细胞类型，细胞状态及其他条件进行优化。）

### 1. 储存液的配制

加入高质量无水 DMSO 将其配制成 1-20 mM 的储存液。建议使用前进行配制，暂时不用的储存液务必按照每次使用量分装后于  $\leq 20^{\circ}\text{C}$  避光冻存。**避免反复冻融!!!**

### 2. 染色步骤

#### 1) 细胞准备

按照 96 孔板每孔  $100\ \mu\text{L} \sim 8 \times 10^4$  个细胞，384 孔板每孔  $25\ \mu\text{L} \sim 2 \times 10^4$  个细胞对细胞进行铺板使其过夜生长。

**【注】**：对于不同的细胞需参照文献对细胞密度进行优化调整。

#### 2) BCECF,AM 工作液的配制

根据具体使用量，取适量上述配制的储存液，用 HHBS（Hanks and 20 mM Hepes buffer）缓冲液稀释成 2-50  $\mu\text{M}$  工作液。

#### 3) 染色。

分别加入等体积的 BCECF,AM 染液（96 孔板，每孔加入  $100\ \mu\text{L}$ ；384 孔板每孔加入  $25\ \mu\text{L}$ ），于  $37^{\circ}\text{C}$  细胞培养箱内孵育 30-60 min。

**【注】**：a. 染色液中不能含有血清，因为血清中可能含有内源性酯酶活性，因此应避免；

b. 染色液中不能含有氨基酸，因为存在的脂胺可能会断裂 AM 基团，阻止染料的加载。

#### 4) 清洗

吸除染液，用 HHBS 清洗细胞 2 次。

#### 5) 加入适当量复合物后观察荧光强度变化。

使用合适荧光显微镜或带有图像分析系统的激光共聚焦显微镜检测细胞的荧光强度。可用 490 nm、430 nm 激发波长，530 nm 发射波长对其进行比率测定。