

## BCECF, AM, Cell-Permeant pH Fluorescent Probe

Cat# CF0901

### 产品概述

BCECF(2',7'-Bis-(2-Carboxyethyl)-5-(and-6)-Carboxyfluorescein, Acetoxymethyl Ester)是目前应用最广泛的细胞内 pH 荧光指示剂。BCECF AM 是 BCECF 的细胞渗透性荧光探针。BCECF AM 在 BCECF 基础上引入乙酰氧基甲基酯 (AM) 基团, 增加了疏水性, 使其能够轻易穿透活细胞膜。BCECF AM 本身是非荧光的, 通过细胞内酯酶的作用转化为荧光 BCECF, 被滞留在细胞内, 随 pH 变化发出荧光。BCECF AM 的荧光激发谱依赖于 pH, 可实现比率测量, 并且适合于流式细胞术和共聚焦显微镜。

表 1 BCECF, AM 的光谱特性

产品编号	产品名称	分子量 (MW)	Ex (nm)	Em (nm)
CF0901	BCECF, AM, Cell-Permeant pH Fluorescent Probe	808.69	504	527

### 产品/组分信息

产品名称	货号	规格
BCECF, AM, Cell-Permeant pH Fluorescent Probe	CF0901-50µG	50 µg

### 储存方式

-25 ~ -15°C; 干燥避光存储。

### 使用说明

本方案仅供参考, 具体实验方案需根据细胞类型、状态及其他条件进行优化。

#### 制备 BCECF AM 原液

1. 放至室温后再开封。建议使用前进行短暂离心, 以确保试剂在试剂管底部。

【注】: 乙酰氧基甲基酯 (Acetoxymethyl Ester, AM) 容易吸潮, 请放置于干燥环境中存储。

2. BCECF AM 固体材料在高质量无水 DMSO 中制备 2-20 mM 的 BCECF AM 原液。

【注】: 1. 不可用水溶性缓冲液配制 BCECF, AM 储存液, 因为 BCECF, AM 在水中的溶解性和稳定性较差。

2. 应使用新鲜无水的 DMSO 溶解 BCECF AM, 否则可能会导致 AM 水解, 使荧光染料无法进入细胞, 影响实验效果。

3. 原液可分装保存, 于 -25 ~ -15°C 避光干燥密封保存, 避免反复冻融。

#### 制备 BCECF AM 工作液

1. HBSS 缓冲液稀释 BCECF AM 原液至 5-50 µM 的 BCECF AM 工作液。

【注】: 1. 非离子洗涤剂 Pluronic F-127 用于增加 BCECF AM 的水溶性, 可降低 BCECF AM 的稳定性。若 BCECF AM 进入细胞效果不理想, 建议加入 Pluronic F-127, 使其终浓度为 0.02-0.05%。但只建议在配制工作液时加入, 不建议将其加入储存液长期保存。

2. 尽可能降低探针使用浓度, 可避免探针造成的细胞毒性。

3. BCECF, AM 工作液需现配现用, 避免反复冻存。

### 细胞染色与检测

在哺乳动物细胞中添加 BCECF AM 通常无需渗透。BCECF AM 一旦进入细胞内, 非特异性酯酶将其水解为 BCECF, 生成荧光的 pH 敏感的指示剂。聚阴离子指示剂的低泄漏率和细胞内体积相对较小导致最终细胞内浓度远高于外部孵育浓度。各种证据表明 BCECF 在细胞质内保持游离。

1. 细胞悬液 (~ $10^6$  个细胞/mL) 并铺板, 过夜培养。
2. 使用 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次, 去除培养基。
3. 在细胞板中加入 100  $\mu$ L/孔 (96 孔板) 或 25  $\mu$ L/孔 (384 孔板) 的 BCECF AM 工作液。

【注】: 1. 染色液中应避免含血清, 因为血清中可能含有内源性酯酶活性。

2. 避免含有氨基酸, 因为脂胺的存在可能会断裂 AM 基团, 阻止染料的负载。

4. 在细胞培养箱中 37°C 孵育染料板 15-60 min, 然后去除残留的染料工作液。
5. 用合适的缓冲液洗涤细胞 3 次, 以去除任何多余的染料工作液。
6. 使用 HBSS 或合适缓冲液制备含化合物的细胞板。

【注】: 1. 通常化合物添加量为 50  $\mu$ L/孔 (96 孔板) 或 25  $\mu$ L/孔 (384 孔板)。

2. 若待测细胞含有有机阴离子转运蛋白, 可以在步骤 4-6 中染料工作溶液中加入有机阴离子转运蛋白抑制剂 (如: 终浓度为 0.5-2 mM Probenecid, 丙磺舒), 以减少脱酯化的染料泄漏。

7. 根据需要进行 pH 测定, 同时使用配备 FITC 滤光片组的荧光显微镜或荧光板读取器在 Ex/Em = 490/535 nm 截止 515 nm 处测量荧光。对于比率测量, 在 Ex/Em<sub>1</sub> = 430/535 nm 截止 515 nm 和 Ex/Em<sub>2</sub> = 505/535 nm 截止 515 nm 处监测荧光。

【注】: 实验应在加入化合物后 3 - 5 min 内完成。建议数据采集时间至少为 8 min。

### Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: [www.cytoch.com](http://www.cytoch.com).

Or contact us by:

E-mail: [support@cytoch.com](mailto:support@cytoch.com)

Tel: 400-969-8881

For research use only.

