

BCFL AM (Superior replacement for BCECF AM) pH 荧光探针

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5891-1mg	BCFL AM (Superior replacement for BCECF AM)	1mg

【务必注意】：初次使用离子探针的用户，强烈建议配合：Pluronic F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级 (NBS2009-1g) 一起使用，以提高探针的水溶性和胞内加载性。

产品简介：

BCFL AM 是一种细胞膜渗透性的荧光探针，用来测定相对的胞内 pH 变化。是常用的比率型 pH 探针-BCECF (2',7'-Bis-(2-Carboxyethyl)-5-(and-6)- Carboxyfluorescein) 的优越替代物。与 BCECF 不同 (至少由三种异构体构成的一种复合物，不同异构体之间的比率因批次而异)，BCFL 是单一异构体，具有更优秀的结果重复性。BCFL 具有与 BCECF 相同的光谱反应 (单波长测定 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=490/535nm$ ；或比率测定 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=505/535nm$ 和 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=430/535nm$) (光谱特征见附录 I)。BCFL AM 表现出 pH 依赖的双激发性， $pK_a \sim 7.0$ ，以及一个激发交点 (454nm)。BCFL AM 的比率型成像使得胞内 pH 测定基本不受几种可变因素的影响，包括染料浓度、光径、细胞泄露和光漂白率。

产品特性：

- 1) 同义名：BCFLAM ester;BCFLAcetoxymethyl Ester;
- 2) 分子量：~600
- 3) 溶解性：溶于 DMSO
- 4) Ex/Em：503/528nm

保存条件：

-20°C避光干燥保存，至少 1 年有效。

产品使用：

A、试剂准备

1. 10% Pluronic F-127 母液配制【可选】

a) 将 1g Pluronic F-127 (货号：NBS2009-1g) 溶于 10ml 去离子水，配制成 10% (w/v)

母液。

b) 溶解过程中于 40~50°C 内加热 10% Pluronic F-127 母液 30min, 使其完全溶解。

c) 10% Pluronic F-127 母液室温保存, 高达 6 个月稳定, 不要冻存。

2. HHBS Buffer 或其他生理缓冲液

3. 丙磺舒 (货号: NBS2007-1g) 或水溶性丙磺舒 (货号: NBS2008-154mg) 【可选】

B、操作步骤

【注意】: 以下实验步骤中用到非离子表面活性剂 Pluronic F-127 和有机阴离子转运抑制剂丙磺舒 (Probenecid), 这两种试剂虽然都是非必需的, 但强力推荐使用。

1. 制备 BCFLAM 母液: 于实验前, 将低温保存的 BCFLAM 粉末 (Mw: ~600) 置于室温回温至少 20min。低速离心后加入高质量无水 DMSO 配制成 10~20mM 母液。比如: 1mg BCFLAM 粉末加入 166μl DMSO 充分溶解, 混匀后即得到 10mM 母液。多余的母液根据单次用量分装, 避光冻存, 约 3 个月稳定

2. 用 HHBS 或其他的生理缓冲液制备 2×工作液 (含 10μM BCFLAM 和 0.08% Pluronic F-127), 比如, 在合适的管子内混合 6.4μl BCFLAM (10mM 储存液) 和 51.2μl 10% Pluronic F-127。之后, 添加 HHBS 或其他生理缓冲液直到总体积为 6.4ml。

【注意】: 对于大部分的细胞系, 建议 BCFLAM 的工作浓度为 4~5μM。Pluronic F-127 的终浓度建议为 0.02~0.04%。

3. 吸取 100μl 2×工作液到含 100μl 细胞培养基的培养孔内, 混匀, 使得 BCFLAM 的终浓度为 5μM 和 Pluronic F-127 的终浓度为 0.04%。

4. 置于 37°C 孵育 30~60min。之后置于室温孵育 30min。

5. 吸走 200μl 染色液, 之后重新加入含 1mM 丙磺舒的 HHBS Buffer 或其他生理缓冲液。

6. 添加化合物到检测孔内。之后通过荧光检测来进行 pH 分析。

【单波长检测: Ex/Em=490/535nm (cutoff=515nm); 或比率测定 Ex/Em=505/535nm 和 430/535nm (cutoff=515nm)】

注意事项:

1. 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。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS5810-1mg</u>	<u>5-(and-6)-Carboxy SNARF-1, Acetoxymethyl Ester, Acetate</u>	1mg
<u>NBS5811-1mg</u>	<u>5-(and-6)-carboxy SNARF-1, Cell Impermeant pH 荧光探针</u>	1mg
<u>NBS5889-1mg</u>	<u>BCECF AM, Cell Permeant pH 荧光探针</u>	1mg
<u>NBS5890-1mg</u>	<u>BCECF Acid, Cell Impermeant pH 荧光探针</u>	1mg
<u>NBS5891-1mg</u>	<u>BCFL AM (Superior replacement for BCECF AM)</u>	1mg
<u>NBS5892-1mg</u>	<u>BCFL Acid (Superior replacement for BCECF Acid)</u>	1mg