

活性氧ROS检测试剂盒（红色荧光）

产品货号：BA2478

产品规格：500次

产品简介：

活性氧包括超氧自由基（ $O_2^{\bullet-}$ ）、过氧化氢（ H_2O_2 ）、羟基自由基（ $\bullet OH$ ）、过氧亚硝基（ $ONOO^-$ ）、一氧化氮（ $\bullet NO$ ）等，参与了细胞增殖、发育分化、衰老和凋亡等多种生理和病理过程，涉及到氧化应激、细胞凋亡和衰老、铁死亡等多种代谢通路。试剂盒利用荧光探针DHE进行活性氧检测。DHE可自由透过活细胞膜进入细胞内，在细胞质中呈蓝色荧光（ $Ex/Em=370/420nm$ ），当被细胞内的ROS氧化后，脱氢形成溴化乙锭。溴化乙锭可以与RNA或DNA结合产生红色荧光，使细胞核呈现明亮的红色（ $Ex/Em=518/610nm$ ），荧光水平与细胞内活性氧水平成正比。

适用：检测贴壁细胞、悬浮细胞、新鲜动物组织中的活性氧水平。

工作波长：最佳激发波长518nm（也可以535nm），最佳发射波长610nm，也可按照PE或FL2通道检测。

所需设备：流式细胞仪、荧光酶标仪、激光共聚焦显微镜等。

产品组成：

产品组成	规格	保存条件
DHE（5mM）	0.2ml	-20℃，避光
活性氧供体（12mM H_2O_2 ）	0.5ml	-20℃，避光

操作步骤：

一、细胞样本

1. 细胞收集：

悬浮细胞：2000rpm，离心5min，收集沉淀，用1×PBS或无血清培养液洗涤2次，1000rpm离心5min，弃上清，取细胞沉淀。

贴壁细胞：吸去培养液，用1×PBS或无血清培养液反复吹打，使细胞层全部进入PBS或培养液中，收集细胞悬液，用1×PBS或无血清培养液洗涤2次，1000rpm离心5min，弃上清，取细胞沉淀；也可胰酶消化小计细胞。

2. 加入DHE探针，同时设置阴性对照、阳性对照管。

样本管：用1×PBS或无血清培养液稀释DHE探针重悬细胞沉淀，一般情况下，细胞密度要求 $1 \times 10^6-2 \times 10^7/ml$ ，推荐探针初始工作浓度为10uM（建议DHE工作浓度可在1uM~100uM范围内，需预实验确定最适浓度）。

阴性对照：不加探针，只加用1×PBS或无血清培养液重悬的细胞。

阳性对照：加入DHE荧光探针同时加入活性氧供体的细胞悬液，推荐活性氧供体工作浓度20-100uM。

3. 37℃避光孵育细胞20分钟~90分钟。通常情况下，20-60分钟即可。注意：孵育时间长短与细胞类型、刺激条件、DHE浓度等有关。可每隔5min颠倒混匀一次，使探针与样本充分接触。

4. 1000g，离心5min，去上清收集细胞沉淀，用1×PBS洗涤2次并重悬细胞。

5. 使用流式细胞仪、荧光酶标仪、激光共聚焦显微镜进行荧光检测，以荧光度数值表示结果。

二、动物组织样本

1. 单细胞悬液制备：采用单细胞悬液制备仪或传统的组织处理方法如：酶解法、研磨法等制备单细胞悬液。

2. 加入DHE探针，同时设置阴性对照、阳性对照管。

样本管：用1×PBS或无血清培养液稀释DHE探针重悬细胞沉淀，一般情况下，细胞密度要求 $1 \times 10^6-2 \times 10^7/ml$ ，



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

推荐探针初始工作浓度为10uM（建议DHE工作浓度可在1uM~100uM范围内，需预实验确定最适浓度）。

阴性对照：不加探针，只加用1×PBS或无血清培养液重悬的细胞。

阳性对照：加入DHE荧光探针同时加入活性氧供体的细胞悬液，推荐活性氧供体工作浓度20-100uM。

3. 37°C避光孵育细胞20分钟~90分钟。通常情况下，20-60分钟即可。注意：孵育时间长短与细胞类型、刺激条件、DHE浓度等有关。可每隔5min颠倒混匀一次，使探针与样本充分接触。
4. 1000g，离心5min，去上清收集细胞沉淀，用1×PBS洗涤2次并重悬细胞。
5. 使用流式细胞仪、荧光酶标仪、激光共聚焦显微镜进行荧光检测，以荧光度数值表示结果。

说明：

1. 本试剂盒特别适用于贴壁细胞和悬浮细胞活性氧的检测。动物组织样本应尽量选择新鲜组织，如样本已经冻存，无法保证检测结果的可靠性。
2. 稀释DHE可1×PBS或无酚红培养基。血清或培养基的颜色并不会影响DHE及细胞内荧光的产生，但可能会影响荧光显微镜观察，干扰荧光分光光度计、荧光酶标仪或流式细胞仪的荧光测定。
3. 加入DHE的时机和孵育时间，以最终能顺利检测细胞内活性氧为目的，当细胞药物处理时间较短(如6小时)或预计产生ROS效应较强时，可将DHE在药物处理之后再加入。
4. 活性氧供体的细胞工作浓度为20-100uM或更低，当其浓度超过200uM时将产生细胞毒性。如果用户熟悉ROS荧光或实验没有必要采用阳性对照，可以不加该试剂。

效 期：12个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com