

活性氧检测试剂盒(ROS 检测试剂盒)(红色荧光)


[产品详情](#)

产品货号	产品名称	储存条件	保质期
C11118	活性氧检测试剂盒(ROS 检测试剂盒)(红色荧光)	-20°C	1 年

产品内容

组成	试剂名称	规格
A 液	DHE 红色荧光染料 (5mM)	0. 2mL
B 液	活性氧阳性对照 (Rosup, 50mg/mL)	1mL

产品简介

活性氧(Reactive oxygen species, ROS)包括超氧自由基、过氧化氢、及其下游产物过氧化物和羟化物等，参与细胞生长增殖、发育分化、衰老和凋亡以及许多生理和病理过程。活性氧检测试剂盒(Reactive Oxygen Species AssayKit)是一种利用荧光探针进行活性氧检测的试剂盒。二氢乙锭 DHE(Dihydroethidium)，可自由透过活细胞膜进入细胞内，并被细胞内的 ROS 氧化，形成氧化乙锭；氧化乙锭可掺入染色体 DNA 中，产生红色荧光。根据活细胞中红色荧光的产生，可以判断细胞 ROS 含量的多少和变化。DHE 在细胞内主要被超氧阴离子型 ROS 氧化，用流式细胞仪或荧光显微镜可直接观察。

二氢乙锭本身为蓝色荧光，最大激发波长为 370nm，最大发射波长为 420nm，脱氢后与 RNA 或 DNA 结合产生红色荧光，最大激发波长为 488~535nm（最适激发波长是 518nm），最大发射波长为 610nm。

本试剂盒只可以用于细胞的活性氧检测，本底低，灵敏度高，线性范围宽，使用方便。本试剂可以测定 200 个样品 200T(96 孔板)。

自备器材

激光共聚焦显微镜或荧光分光光度计或荧光酶标仪激发波长 488~535nm，发射波长 610nm。离心机，移液器，PBS/ HBSS/ HEPES 缓冲液（不含酚红和钙镁）等相关仪器。

使用说明

贴壁细胞染色：

(1) 使用前用 PBS 或者无血清培养基稀释母液至所需工作浓度，通常 5~20 μM (按染色液：稀释液的比例为 1:1000 到 1: 250) 就可以满足实验需求，具体的浓度要根据实验需要进行进一步的调整。

(2) 以 96 孔板为例，细胞量在每孔 1x10⁵-6 时，加入的染色量 200ul，工作液浓度在 5-20μM，室温避光孵育 60min 或 37° C 孵育 30-40min。

(3) 去除染色液，用 1xPBS 浸洗 2 次后，显微镜检测。

悬浮细胞染色：

(1) 收集悬浮细胞，离心弃掉培养基，用 PBS/HBSS/HEPES 缓冲液（不含酚红和钙镁）将细胞调整为 1x10⁵-6/ml 的细胞悬液。

(2) 200 μL 的细胞悬液里面加入 1-2 μL 的红色荧光染料原液 (5mM)，吹打混合均匀，室温避光孵育 60min 或 37° C 孵育 30-40min。

(3) 孵育后，250-500g 离心 5min-10min，去除染色液，用 PBS 清洗 2 次，显微镜检测。

阳性对照

阳性对照 Rosup 可以按照 1: 1000 的比例使用。例如装载好探针的细胞共 1mL, 可以加入 1 μ L 的阳性对照刺激。通常刺激后 0.5-4h 内可以观察到非常显著的活性氧水平升高。对于不同的细胞，活性氧阳性对照的效果可能有较大的差别。如果在刺激后 0.5h 内观察不到活性氧的升高，可以适当提高活性氧阳性对照的浓度。如果活性氧升高得过快，可以适当降低活性氧阳性对照的浓度。

对于某些特别的细胞，实验过程中如果发现没有刺激的阴性对照细胞荧光也比较强，可以 1:2500-1:1000 稀释探针的终浓度为 2-5 μ M。探针装载的时间也可以根据情况在 15-60min 内适当进行调整。

注意事项

1. 探针装载后，一定要洗净残余的未进入细胞内的探针，否则会导致背景较高。
2. 尽量缩短探针装载后到测定所用的时间（刺激时间除外），以减少各种可能的误差。
3. 有的细胞装载探针后细胞容易漂起来，洗细胞时实验组会吸走一部分细胞。所以种细胞时细胞量增加一倍，这样细胞紧密连接，贴壁比较牢，实验组的荧光值可能就会升高。另外有的细胞对探针很敏感，建议工作液浓度适当低到 1-2 μ M。浓度太高容易有非特异性染色。
4. 探针经稀释后很不稳定，一旦氧化，本底荧光值就会升高，工作液建议现用现配。
5. 染色液为 DMSO 溶液，气温较低时为凝固状态，极易粘附在管壁、吸头壁。注意需要充分融解后使用，变成液体状态后离心至管底部再开盖。
6. 结果处理，推荐表示细胞活性氧强度=荧光强度/蛋白 (mg)，并且结合相关文献数据进行计算。
7. 如果是流式检测，推荐贴壁细胞用胰酶消化制备成单细胞悬液；悬浮生长细胞，直接收集细胞。用 PBS 重悬细胞 $1 \times 10^{5-6}/\text{ml}$ 。
8. 活性氧阳性对照 (Rosup) 仅仅用于作为阳性对照的样品，并不是在每个样品中都需加入活性氧阳性对照。
9. 定量的话要作标准曲线。先做一个推荐不同浓度 H₂O₂ (100-400 μ M) 氧化荧光值，做一条标准曲线，X 轴为 H₂O₂ 浓度，Y 轴是荧光值，得出一个方程，在看你的样品的荧光值即 Y 值是多少，计算出对应的 X 值就是。
10. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
11. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
12. 实验结果受多种因素影响，相关处理仅限于产品本身，不涉及其他赔偿。

免责声明：本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

北京伊事达科技有限公司

电话: 13564444959

官网: www.followme-shop.com

地址: 北京市海淀区东北旺西路 58 号尚科办公社区 C 区一楼



公众号



客服