

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℃	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 μ M (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 1×10^5 ~ 6×10^5 时，加入的染色量 200 μ L，工作液浓度在 5~20 μ M，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 1×10^5 ~ 6×10^5 /ml 的细胞悬液。
- (2) 200 μ L 的细胞悬液里面加入 1~2 μ L 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 1×10^5 /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 H_2O_2 (100-400 μ M) 氧化荧光值, 做一条标准曲线, X 轴为 H_2O_2 浓度, Y 轴是荧光值, 得出一个方程, 在看你样品的荧光值即 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