

活性氧检测试剂盒

Reactive Oxygen Species Assay Kit



产品详情

产品货号	产品名称	储存条件	保质期
C11007	活性氧检测试剂盒	-20℃	1 年

产品简介:

1. 活性氧检测试剂盒(Reactive Oxygen Species Assay Kit)是一种利用荧光探针 DCFH-DA 进行活性氧检测的试剂盒。DCFH-DA 本身没有荧光,可以自由穿过细胞膜,进入细胞内后,可以被细胞内的酯酶水解生成 DCFH。而 DCFH 不能通透细胞膜,从而使探针很容易被装载到细胞内。细胞内的活性氧可以氧化无荧光的 DCFH 生成有荧光的 DCF。检测 DCF 的荧光就可以知道细胞内活性氧的水平。
2. 本试剂盒提供了活性氧阳性对照试剂 Rosup,以便于活性氧的检测。Rosup 是一种混合物,浓度为 50mg/mL。
3. 本试剂盒本底低,灵敏度高,线性范围宽,使用方便。

产品组成:

组分	100T	500T	保存温度
A 液: DCFH-DA (10mM)	0. 1ml	0. 1mL×5	-20℃避光
B 液: 活性氧阳性对照 (Rosup, 50mg/mL)	1ml	1mL×5	-20℃避光

操作步骤(仅供参考):

一、装载探针:

对于刺激时间较短(通常为 2 小时以内)的细胞,先装载探针,后用活性氧阳性对照或自己感兴趣的药物刺激细胞。对于细胞刺激时间较长(通常为 6 小时以上)的细胞,先用活性氧阳性对照或自己感兴趣的药物刺激细胞,后装载探针。

原位装载探针: 本方法仅适用于贴壁培养细胞。按照 1:1000~1:10000 用无血清培养液稀释 DCFH-DA,使终浓度为 1~10 $\mu\text{mol/L}$ 。去除细胞培养液,加入适当体积稀释好的 DCFH-DA。加入的体积以能充分盖住细胞为宜,通常对于六孔板的一个孔加入稀释好的 DCFH-DA 不少于 1mL。37℃细胞培养箱内孵育 15~60 分钟。用无血清细胞培养液洗涤细胞三次,以充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。通常活性氧阳性对照在刺激细胞 20~30 分钟后可以显著提高活性氧水平。(注:建议设置探针稀释梯度,以确定最佳工作浓度)

收集细胞后装载探针: 细胞收集后悬浮于无血清培养液中,调整细胞数量为一百万至二千万/mL,按照 1:1000~1:10000 的比例加入 DCFH-DA,使其终浓度为 1~10 $\mu\text{mol/L}$,37℃细胞培养箱内孵育 15~60 分钟。每隔 3~5 分钟颠倒混匀,使探针和细胞充分接触。用无血清细胞培养液洗涤细胞三次,以充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。直接用活性氧阳性对照或自己感兴趣的药物刺激细胞,或把细胞等分成若干份后刺激细胞。通常活性氧阳性对照在刺激细胞 20~30 分钟后可以显著提高活性氧水平。(注:建议设置探针稀释梯度,以确定最佳工作浓度)。

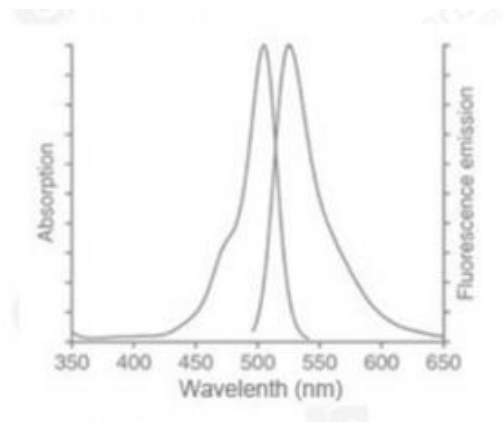
说明: 仅在阳性对照孔中加入 Rosup 作为阳性对照,其余孔不必加入 Rosup。阳性对照可以按照 1:1000 的比例使用。例如装载好探针的细胞共 1mL,可以加入 1 μL 的阳性对照刺激。通常刺激后 20~30 分钟内可以观察到非常显著的活性氧水平升高。对于不同的细胞,活性氧阳性对照的效果可能有较大的差别。如果在刺激后 30 分钟内观察不到活性氧的升高,可以适当提高活性氧阳性对照的浓度。如果活性氧升高得过快,可以适当降低活性氧阳性对照的浓度

二、检测:

对于原位装载探针的样品可以用激光共聚焦显微镜直接观察,或收集细胞后用荧光分光光度计、荧光酶标仪或流式细胞仪检测。对于收集细胞后装载探针的样品可以用荧光分光光度计、荧光酶标仪或流式细胞仪检测,也可以用激光共聚焦显微镜直接观察。

三、参数设置

使用 488nm 激发波长，525nm 发射波长，实时或逐时间点检测刺激前后荧光的强弱。DCF 的荧光光谱和 FITC 非常相似，可以用 FITC 的参数设置检测 DCF。DCF 的激发光谱和发射光谱参考下图。



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. 探针装载完毕并洗净残余探针后，可以进行激发波长的扫描和发射波长的扫描，以确认探针的装载情况是否良好。DCF 的激发光谱和发射光谱请参考上图。
3. 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。
4. 我司生产的生化试剂如无特殊标注，基本为非无菌包装，若用于细胞实验，请提前做好预处理。需低温保存的产品，一旦配成溶液，请分装保存，避免反复冻融造成的产品失效。
5. 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。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. 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