

组织活性氧 (ROS) 检测试剂盒 (荧光法)

货号: PMK1884

保存: -20°C 避光保存 6 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 组织

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。正常情况下, 细胞内抗氧化防御系统与氧自由基处于平衡状态, 细胞内活性氧 (ROS) 水平维持在较低的生理范围; 在病理情况下, 细胞内抗氧化系统与氧自由基的平衡被打破, 细胞内活性氧水平过多, 就可破坏线粒体酶类、脂类和核酸, 使机体出现氧化应激。本试剂盒提供了一荧光测定法, 用于直接定量检测组织活性氧。其原理是 DCFHDA ROS 探针为还原型二氯荧光素 (2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA) 可扩散通过线粒体膜, 在线粒体内被酯酶水解, 形成无荧光的 DCFH, DCFH 迅速与 ROS 反应生成绿色荧光物—氧化型二氯荧光素 (2', 7'-dichlorofluorescein, DCF), 具有 488/520nm 的最大激发/发射波长。绿色荧光强度与组织内活性氧水平成正比, 检测 DCFHDA 产物的荧光就可以知道组织内活性氧的水平。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4°C 保存
DCFH-DA 活性氧探针	50 μL	100 μL	-20°C 避光保存

自备耗材

荧光分光光度计/荧光酶标仪或多功能酶标仪、恒温培养箱、分析天平
全黑 96 孔板、可调节式移液枪及枪头
低温离心机、制冰机
纯水、PBS
匀浆器或研钵

试剂准备

提取液: 即用型; 4°C 保存。

DCFH-DA 活性氧探针: 根据样本数量, 临用前用纯水将 DCFHDA 探针 10 倍稀释。充分混匀, 备用, 现用现配。2 周内可 2-8°C 保存, 长期不用可以 -20°C 保存。避免反复冻融。

注意: 探针为 DMSO 溶液, 冬季气温较低时为凝固状态, 极易粘附在管壁、吸头壁。注意需要加热融解, 变成液体状态后离心至管底部再开盖。请勿一次性将探针全部稀释。

样本制备

新鲜组织样本用 PBS 洗净, 称取 0.1g 组织, 加入 1mL 预冷的提取液, 冰浴匀浆。100×g, 4°C 离心 3 分钟, 弃沉淀, 取上清。

注意: 推荐使用新鲜样本检测活性氧, 反映的是组织当时的活性氧状态。冻存的组织样本的 ROS 在长期冻存过程中会损失掉, 已经冻存的组织样本中残余的 ROS 也可以用本试剂盒检测。推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

产品说明书

1. 荧光分光光度计/荧光酶标仪或多功能酶标仪预热 30min 以上，调节激发光 488nm，发射光 525nm。用 190 μL 提取液加 10 μL 稀释后的 DCFHDA 探针作为空白，荧光分光光度计用空白调零，荧光酶标仪或多功能酶标仪用样本荧光强度减去空白荧光强度。

2. 样本测定：在全黑 96 孔板或微量石英比色皿中依次加入 190 μL 匀浆上清液、10 μL 稀释后的 DCFHDA 探针，用移液器吹打，使之充分混匀。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 分钟。孵育完成后，测定荧光强度。

注意：如荧光强度太强，超过了仪器的检测范围，可将孵育后的匀浆上清液稀释后再检测。一般稀释 5-50 倍，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

组织活性氧强度=荧光强度 (RFU) / 蛋白浓度 (mg prot)

注意：数据与蛋白浓度的单位无关。此处以样本蛋白浓度数据作为校正系数，对不同样品进行均一化处理。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK0859 ROS 活性氧检测试剂盒

PMK1052 羟自由基清除能力检测试剂盒（微量法）

PMK1036 超氧化物歧化酶（SOD）检测试剂盒（微量法）

PMK1038 过氧化物酶（POD）检测试剂盒（微量法）

PMK1041 黄嘌呤氧化酶（XO）检测试剂盒（微量法）

PMK1037 过氧化氢酶（CAT）检测试剂盒（微量法）

PMK1061 超氧阴离子清除能力检测试剂盒（微量法）



更多产品详情了解，请关注公众号：