

活性氧检测试剂盒(DCFH-DA 荧光法)

产品简介:

活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)包括超氧化物、过氧化氢、羟自由基以及具有高氧化活性的活性氧代谢产物。活性氧主要由中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞为代表的免疫细胞受到刺激后产生, 其它体细胞在应激条件下线粒体电子传递异常也会产生活性氧。免疫细胞产生的活性氧能够抵御微生物的感染。在病理条件下, 过度产生的活性氧也会导致机体损伤和引发各种疾病。

活性氧检测试剂盒(Reactive Oxygen Species Assay Kit, 也称 ROS 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, 通过检测 DCF 的荧光就可以知道细胞内活性氧的水平, 从而用于病理生理研究或药物筛选。用流式细胞仪或荧光显微镜可直接观察, 是一种经典活细胞中活性氧的检测方法。本试剂盒利用能够刺激多种免疫细胞产生活性氧的佛波酯(PMA)为阳性对照, 灵敏度高, 线性范围宽, 使用方便。本产品仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	TO0205 100T	TO0205 500T	Storage
试剂(A): DCFH-DA 溶液(10mM)	0.1ml	0.5ml	-20℃ 避光
试剂(B): PMA 溶液(1000×)	0.05ml	0.3ml	-20℃ 避光
使用说明书	1 份		

自备材料:

- 1、细胞、纯化的线粒体、细胞培养用 PBS 或无血清细胞培养液
- 2、系列可调节量程移液器及吸头、离心管、24 孔板、细胞培养箱
- 3、流式细胞仪、荧光酶标仪、荧光分光光度计、激光共聚焦显微镜、荧光显微镜等

4、操作步骤(仅供参考):

操作步骤略, 如需完整版请咨询客服。

注意事项:

- 1、初次使用试剂时, 请适当离心后使用。

- 2、活性氧阳性对照(PMA)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。
- 3、初次测定活性氧，可取小鼠骨髓细胞， 1×10^6 细胞/孔，接种到 24 孔板中，加入 1ml 无血清培养基稀释 1000 倍的 DCFH-DA，然后再加入 1ul PMA 溶液(1000 $\times$)刺激 30-60min，检测活性氧作为阳性对照。通常刺激后 0.5-4h 可观察到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 30min 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。
- 4、对于某些细胞，如果发现没有刺激的阴性对照细胞荧光也比较强，可以按照 1:2000-1:5000 稀释 DCFH-DA，使装载探针时 DCFH-DA 的浓度为 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。
- 5、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。
- 6、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。
- 7、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。
- 8、荧光酶标仪检测时须使用适合荧光检测的黑板或白板。
- 9、如果定量的话需要制作标准曲线。先做一个不同浓度 H_2O_2 氧化 DCFA 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，再看样品的荧光值即 Y 值是多少，对应的 X 值即对应的 H_2O_2 浓度。
- 10、实验组荧光值不高可能是因为在装载探针后有的细胞容易漂起来，洗细胞时一部分细胞会被吸走。所以在种细胞时可以把细胞量增加一倍，这样细胞紧密连接，贴壁比较牢，荧光值就高了。
- 11、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：12 个月有效。低温运输，-20 $^{\circ}$ C 避光保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
CA0075	青霉素-链霉素混合溶液(100 $\times$ 双抗)
DA0041	细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法)
PE0600	彩色预染蛋白分子量标准(10-180kD)
PS0013	RIPA 裂解液(强)
PT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
TC0670	植物可溶性糖检测试剂盒(蒽酮微板法)
TC0751	丙酮酸检测试剂盒(二硝基苯肼比色法)
TC1015	铁检测试剂盒(亚铁嗪微板法)

TC1211	总胆固醇(TC)检测试剂盒(COD-PAP 单试剂微板法)
TE0727	总超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(黄嘌呤氧化酶微板法)
TO1001	总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(ABTS 微板法)
TO1075	过氧化氢(H ₂ O ₂)检测试剂盒(硫酸钛微板法)
TO1141	DPPH 自由基清除率检测试剂盒(微板法)
TP1013	植物根系活力检测试剂盒(萘胺比色法)
TP1121	植物总酚(TP)检测试剂盒(微板法)

文献引用:

- 1、 Shun Yao,Junjie Chi,Yuetong Wang,et al.Zn-MOF Encapsulated Antibacterial and Degradable Microneedles Array for Promoting Wound Healing.Advanced Healthcare Materials,May 2021.10.1002/adhm.202100056.(IF 9.933)
- 2、 Jinrong Tian,Xing Dong,Eluby Esmie Sabola,et al.Sequential Regulation of Local Reactive Oxygen Species by Ir@Cu/Zn-MOF Nanoparticles for Promoting Infected Wound Healing.ACS Biomaterials Science & Engineering,May 2024.10.1021/acsbomaterials.4c00261.(IF 5.4)

注：更多使用本产品的文献请参考产品网页