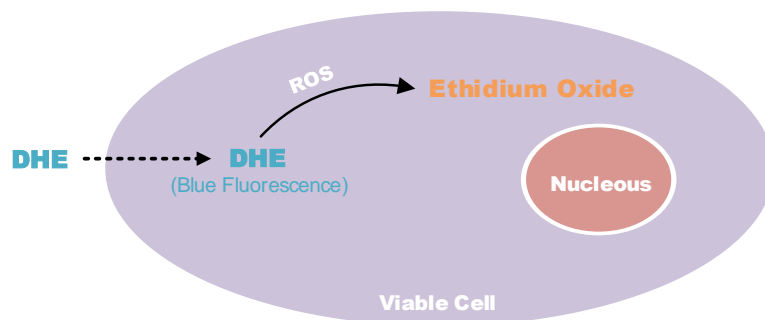




## 活性氧检测试剂盒

## Reactive Oxygen Species Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 活性氧检测试剂盒

### Reactive Oxygen Species Assay Kit

#### 一、产品描述

活性氧 (Reactive Oxygen Species) 是指生物体内与氧代谢有关的含氧自由基和易形成自由基的过氧化物的总称。常见氧化损伤的活性氧有超氧阴离子, 氢过氧基, 过氧化氢, 羟自由基, R-氧基 (烷氧基), R-过氧基 (烷过氧基), R-氢过氧化物等。活性氧与机体氧化损伤密切相关, 人体的许多生理和病理发生过程中活性氧都参与并扮演重要角色, 一旦细胞内产生活性氧自由基, 就会损伤一系列的细胞组分。

利用荧光探针 DHE 进行活性氧检测是一种基于荧光强度变化, 检测细胞内活性氧水平的经典方法, DHE 可以自由穿过细胞膜, 进入细胞内后, 在细胞质中呈蓝色荧光, 被细胞内的 ROS 氧化后形成氧化乙啶掺入染色体 DNA 中, 使细胞核呈现明亮红色荧光, 在激发波长 535 nm, 发射波长 610 nm 处, 使用荧光显微镜、荧光分光光度计、流式细胞仪或激光共聚焦显微镜等检测荧光信号, 测定细胞内活性氧水平。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
DHE (5 mM)	液体 200 $\mu$ L $\times$ 1 支	-20°C避光保存

#### 三、产品使用说明

##### (1) 原位装载探针 (仅适用于贴壁培养细胞)

- ①按照1:500用无血清培养液稀释DHE, 使终浓度为10  $\mu$ mol/L;
- ②去除细胞培养液, 加入适当体积稀释好的DHE, 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DHE不少于500  $\mu$ L;
- ③37°C细胞培养箱内孵育10-60 min, 每隔3-5 min颠倒混匀一次, 使探针和细胞充分接触;
- ④弃去上层培养液, 使用PBS或无血清培养液反复吹打, 使细胞层全部进入PBS或培养液中;
- ⑤收集细胞悬液, 使用PBS或无血清培养液洗涤2-3次, 去除未进入细胞内的探针;
- ⑥1000 g常温离心5 min, 弃上清, 收集细胞沉淀, 使用PBS洗涤2-3次, 重悬细胞即可进行检测。

## (2) 收集细胞后装载探针（适用于悬浮细胞和贴壁细胞）

①细胞收集：**悬浮细胞**：2000 g常温离心5 min，弃上清，留沉淀，使用PBS或无血清培养液洗涤2-3次，1000 g常温离心5 min，弃上清，取细胞沉淀；**贴壁细胞**：去除培养液，使用PBS或无血清培养液反复吹打，使细胞层全部进入PBS或培养液中，收集细胞悬液，使用PBS或无血清培养液洗涤2-3次，1000 g常温离心5 min，弃上清，取细胞沉淀。

②按照1：500用无血清培养液稀释DHE，使终浓度为10  $\mu\text{mol/L}$ （可在1-100  $\mu\text{mol/L}$ 范围内调整）；

③细胞收集后悬浮于稀释好的DHE中，细胞浓度为 $1 \times 10^6$ - $2 \times 10^7$ ；

④37°C细胞培养箱内孵育10-60 min，每隔3-5 min颠倒混匀一次，使探针和细胞充分接触；

⑤1000 g常温离心5 min，弃上清，收集细胞沉淀，使用PBS洗涤2-3次，重悬细胞，重悬细胞即可进行检测。

## 2.检测

①**原位装载探针法**：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。

②**收集细胞后装载探针**：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。

## 3.参数设置

使用480-535 nm激发波长，590-610 nm发射波长，实时或逐时间点检测刺激前后荧光的强弱。

## 四、注意事项

①上述PBS推荐浓度为0.01 mol/L；

②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；

③DHE在光照和空气中易被氧化，保存和操作中应注意避光；

④若需要设置无DHE对照，即不加探针，只使用PBS重悬的细胞；

⑤对于不同细胞样本，建议选择合适的孵育时间和探针浓度，以观察ROS变化；

⑥为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedure.**

---

**boxbio**

**Manufactured and Distributed by**

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: [techsupport@boxbio.cn](mailto:techsupport@boxbio.cn)

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

