

Cat. NO: ZC-G46190

Size: 100T

## 组织活性氧(ROS)检测试剂盒说明书

### DHE 荧光法

#### 一、产品介绍：

本试剂盒是一种以 DHE ( Dihydroethidium) 为荧光探针，快速灵敏地检测组织内超氧阴离子活性氧的试剂盒。DHE 探针在组织中活性氧存在的条件下，被氧化生成溴化乙锭，溴化乙锭可以与细胞内核酸结合，产生红色荧光，红色荧光强度与组织内活性氧水平成正比，可间接判断组织内活性氧的水平，同时也可用于细胞的活性氧检测。DHE 本身为蓝色荧光，Ex 为 355nm, Em 为 420nm；当 DHE 脱氢和核酸结合后显示 为红色荧光，Ex 为 520nm, Em 为 605 nm。细胞样本染色后可使用荧光显微镜、激光共聚焦显微镜、流式 细胞仪、荧光酶标仪等荧光检测系统进行检测；组织样本需裂解后，使用酶标仪进行检测。

#### 二、试剂的组成和配置：

Component Number	Component	ZC-G46190 -100T
ZC-G46190	DHE 探针 ( 500×)	20 μL
ZC-G46190	匀浆缓冲液	100mL
	产品说明书	1 份

#### 三、操作步骤

##### ● 组织检测

100×DHE 染色液配制：取 2 μL DHE 探针 ( 500×) 与 8 μL PBS 缓冲液充分混匀，配制成 100 ×DHE 染色液备用。

##### (一) 组织样本处理：

1. 取新鲜的组织样本，用 PBS 洗涤干净。
2. 50mg 组织中加入 450 μL 匀浆液（可按比例增减），充分匀浆。
3. 10000 g, 4°C 离心 10min, 弃沉淀，取上清（建议立即检测，或-80°C 保存）。



+86(21)65681082



zcibio@163.com



www.zcielisa.com

## (二) 样本检测

1. 在黑色 96 孔板 中加入 90  $\mu\text{L}$  匀浆缓冲液。
2. 加入 10  $\mu\text{L}$  组织匀浆上清。
3. 加入 1  $\mu\text{L}$  100×DHE 染色液。
4. 37°C避光孵育 20min , 酶标仪设置激发波长 520nm, 发射波长设置 605nm 检测。
5. 数据分析：以荧光强度 (RFU)/蛋白质量 (蛋白浓度\*加入样本的体积) , 表示组织活性氧强度。

### ● 活细胞检测

DHE 染色工作液配制 : 取 2  $\mu\text{L}$  DHE 探针 (500×) 与 1mL PBS 充分混匀, 配制成 1×DHE 染色工作液备用。

1. 细胞染色 (以下为贴壁细胞 6 孔板方案 , 悬浮细胞换液需要离心操作) 正常或处理过后的细胞, 用 PBS 洗涤 2-3 次。
2. 加入 1mL 1×DHE 染色工作液, 37°C避光孵育 30min (不同细胞孵育时间存在差异, 可在 10-60min 范围内调整)。
3. 用 PBS 洗涤细胞 2-3 次。
4. 用荧光显微镜可直接观察, 选择 DsRed 通道即可激发; 若用酶标仪检测, 推荐使用黑底不透明发光板检测, 设置激发波长 520nm, 发射波长 605nm; 流式细胞仪检测, 选择 PE 通道。



+86(21)65681082



zcibio@163.com



www.zcielisa.com

#### 四、注意事项

1. 如每次使用的 DHE 探针较少, 请视情况分装, 尽量避免 DHE 探针反复冻融, -20°C 或 -80°C 避光保存。
2. 本产品对光敏感, 操作过程尽量避免强光接触。
3. 尽量使用新鲜组织样本, 或匀浆后短期保存于 -80°C 的样本。
4. 冰冻细胞样本, 可采取组织样本的方式, 匀浆后进行检测。
5. 组织样本检测时, 如果结果与预期存在较大差别, 可以将组织匀浆液稀释做标曲, 在线性范围内选择 合适的稀释度进行检测。
6. 操作时请穿实验服, 佩戴一次性手套。

#### 五、储存与运输

冰袋(wet ice)运输; -20°C保存; 6 个月有效。



+86(21)65681082



zcibio@163.com



www.zcielisa.com