

细胞活性氧(ROS)荧光法测定试剂盒(绿色)（荧光法）

产品货号：BA2825

产品规格：48样/96样

产品简介：

在正常的生命过程中，活性氧是维护生命所必需，在体内处于一种不断产生、不断清除的动态平衡中，始终维持在一个正常的水平，可以说是机体的一种有效的防御系统。活性氧的生理功能为参与体内的电子转移、杀菌和物质代谢。

利用化学荧光指示剂即荧光探针：2',7'-Dichlorofluorescein Diacetate, (DCFH-DA)检测细胞内的活性氧。DCFH可以被各种活性氧所氧化，转变成一种可以产生荧光信号的物质即二氯荧光素(2',7'-Dichlorofluorescein, DCF)，所得到的DCF荧光信号并不是被某种单一的活性氧氧化所产生，所以用这种荧光指示剂测定的活性氧，反映的是所有活性氧的总的氧化能力。这种荧光信号在激发波长488nm和发射波长525nm处有最大波峰，其荧光强度和活性氧水平成正比。

产品内容：

产品名称	48样	96样	保存条件	备注
试剂一	液体mL×1支	液体mL×1支	-20℃	临用前解冻至室温，低温时易结晶，使用前可在25℃水浴至全部融解后使用。
试剂二	粉剂mL×1瓶	粉剂mL×2瓶	2-8℃	

所需的仪器和用品：

荧光酶标仪、台式离心机、可调式移液器、黑色96孔板。

活性氧(ROS)测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1. 样本制备：

- (1) 贴壁细胞，吸去培养液，利用无血清培养液或者0.01M PBS反复吹打，肉眼观察孔板底部(瓶底)由半透明(细胞单层连接成片)转为透明，细胞层几乎全部吹打到PBS中。将细胞悬液全部收集到离心管中。用无血清培养液或者0.01M PBS洗涤2次，1000rpm，室温离心5min，吸净上清，留细胞沉淀用于测定。
- (2) 悬浮细胞：按常规方法离心(2000rpm，室温离心5min)，收集细胞沉淀，用无血清培养液或者0.01M PBS洗涤2次，1000rpm，室温离心5min，吸净上清，留细胞沉淀用于测定。

2. 上机检测：

- (1) 酶标仪预热30min以上，调节波长。
- (2) 所有试剂解冻至室温（25℃）。混合液制备：用前将试剂一：试剂二=1:100制成混合液（现配现用，用多少配多少）。
- (3) 在EP管中依次加入（整个过程尽量避光）：

试剂名称(μL)	测定管	空白管（仅做一次）
	细胞沉淀	
混合液	1mL	1mL
混匀，37℃孵育30min（每隔3-5min颠倒混匀一次），1000g离心5min，去上清，留沉淀。		
试剂二	1mL	1mL



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

混匀，取200 μ L测定管和200 μ L混合液分别至黑色96孔板中于激发波长488nm，
发射波长525nm处读取荧光值F测定和F空白。荧光强度=F测定-F空白。

【注】

1. 若荧光值较小，可以增加37 $^{\circ}$ C孵育反应时间T(如增至1小时)，或增加试剂一与试剂二比例浓度(如试剂一：试剂二1:50)；改变后的T需代入公式重新计算。
2. 若荧光值较大，可以减少37 $^{\circ}$ C孵育反应时间T(如减至10min)，改变后的T需代入公式重新计算。

结果计算：

1. 按照细胞数量计算：

活性氧强度定义：每万细胞每分钟产生的荧光强度定义为活性氧强度。

活性氧强度=荧光强度/T/500

500---细胞数量，万；T--反应时间，30min。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com