

ROS 活性氧检测试剂盒-红色荧光

产品组成:

	产品名称	货号	包装	保存
A 液	缓冲液 A	JX014	100mL	-20℃避光保存, 有效期一年
B 液	红色荧光染料 (5mM)		0.2mL	

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。活性氧检测试剂盒 (Reactive Oxygen Species Assay Kit) 是一种利用荧光探针进行活性氧检测的试剂盒。本试剂盒利用红色荧光探针检测各种动物和植物样本的活性氧。红色荧光的活性氧探针的最大激发/发射波长 510/610nm。

检测荧光就可以知道细胞内活性氧的水平。根据活细胞中荧光的产生,可以判断细胞活性氧的含量和变化。用流式细胞仪或荧光显微镜可直接观察,是一种经典的组织或活细胞中活性氧检测方法。本试剂盒提供了活性氧阳性对照试剂 Rosup, 以便于活性氧的检测。Rosup是一种混合物,浓度为50mg/mL。Rosup 为活性氧阳性诱导药物,根据其荧光信号强度,可分析活性氧的真正水平。

本试剂盒只可以用于细胞和新鲜组织样本的活性氧检测,不可以用于冻存的组织样本的活性氧检测。

本试剂盒本底低,灵敏度高,线性范围宽,使用方便。

注意事项:

1. 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。
2. 阳性对照Rosup 一般使用浓度为100 μ M (推荐浓度100-400 μ M,具体依细胞类型而定)。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,可延长诱导时间或适当提高活性氧阳性对照的浓度。如果活性氧升高得过快,可缩短诱导时间或适当降低活性氧阳性对照的浓度。
3. 对于某些特别的细胞,实验过程中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 稀释探针的终浓度为2-5 μ M。探针装载的时间也可以根据情况在15-60 min 内适当进行调整。
4. 活性氧阳性对照(Rosup) 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。
5. 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。
6. 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。
7. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。
8. 定量的话要作标准曲线吧。先做一个不同浓度H₂O₂氧化荧光值,做一条标准曲线,X轴为H₂O₂浓度,y轴是荧光值,得出一个方程,在看你样品的荧光值即Y值是多少,对应的X值就是。
9. 有的细胞装载探针后细胞容易漂起来,洗细胞时实验组会吸走一部分细胞。所以种细胞时细胞量增加一倍,这样细胞紧密连接,贴壁比较牢,实验组的荧光值就高了。另外的探针很敏感,工作液浓度要低一些,1-2 μ M就够啦,浓度太高容易有非特异性染色。这个探针很不稳定,一旦氧化了本底荧光值就会升高,最好工作液现用现配。
10. 染色液为DMSO溶液,气温较低时为凝固状态,极易粘附在管壁、吸头壁。注意需要充分融解后使用,变成液体状态后离心至管底部再开盖。

自备器材:

激光共聚焦显微镜或荧光分光光度计或荧光酶标仪激发波长 488 ~ 535nm, 发射波长 610nm。

离心机, 移液器, PBS 缓冲液/HBSS (不含酚红), 蛋白定量试剂盒

使用说明：

1) 样本处理：

刚取得的新鲜组织样本用PBS洗净。

准确称取50mg组织，加入1mL匀浆缓冲液A，用玻璃匀浆器充分匀浆。

在100×g，4℃离心3分钟，弃沉淀，取上清。

2) 样本检测：

在96孔板中加入200μL匀浆上清液、2μL DHE探针，用移液器吹打，使之充分混匀。

在37℃避光孵育30分钟。

置于荧光酶标仪中，后于激发波长为488~535nm、发射波长610nm检测荧光强度。

3) 蛋白定量：

另取50μL上清匀浆液，用PBS大约稀释30倍。

取100μL进行蛋白定量。

4) 结果处理：

以荧光强度/毫克蛋白表示组织活性氧强度。

官方网址：www.genesion.com.cn

公司邮箱：GenXion@vip.qq.com

订货热线：4006-169-114、020-84224925

