

## 细胞活性氧（ROS）检测试剂盒(DCFH 法)

- 【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。

【货号】 TC1001

【规格】 96T

【包装清单】

| 试剂名称 | 规格       | 保存条件 | 备注                                 |
|------|----------|------|------------------------------------|
| 试剂一  | 液体 mLx1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  | 液体 mLx2瓶 | 4℃   |                                    |

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

## 【操作步骤】

### 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0.01MPBS 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0.01MPBS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0.01MPBS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，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(uL)                                                                       | 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)，<br>1000g离心5min，去上清，留沉淀。                         |      |           |
| 试剂二                                                                            | 1mL  | 1mL       |
| 混匀，取200uL测定管和200uL空白管分别至黑色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 |      |           |

### 3、结果计算：

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(RFU/min/ $10^4$ cell)=荧光强度/T/500

500—细胞数量，万      T—反应时间，30 min

## 【注意事项】

1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。