



ROS荧光探针-DHE

(ROS Fluorescent Probe-DHE)

产品说明:

活性氧物质(Reactive Oxygen Species, ROS)是细胞线粒体氧化呼吸中产生的自由基活性的物质, 参与细胞多种生理和病理形成机制。本ROS荧光探针—二氢乙啶(Dihydroethidium, DHE), 可自由透过活细胞膜进入细胞内, 并被细胞内的ROS氧化, 形成氧化乙啶; 氧化乙啶可掺入染色体DNA中, 产生红色荧光。根据活细胞中红色荧光的产生, 可以判断细胞ROS含量的多少和变化。二氢乙啶在细胞内主要被超氧阴离子型ROS氧化, 用流式细胞仪或荧光显微镜可直接观察, 是一种快速简便的组织或培养活细胞中ROS经典检测方法。

产品内容与储存方法:

名称	数量	保存条件
ROS Fluorescent Probe-DHE	0.2/1 ml	-20℃

试剂为二氢乙啶5 mM的DMSO溶液, 含有化学稳定剂。低温运输, -20℃避光保存。有效期6个月。

操作方法:

染色方法:

- 1) 探针溶液可在新鲜培养液、缓冲盐溶液或组织灌流液中稀释到所需浓度, 以此染色液更换细胞培养液或灌流液; 也可直接向细胞孵育液体或灌流液中加入探针溶液至所需浓度。
- 2) 依据细胞ROS含量的不同, 二氢乙啶终浓度可选择在1 μ M~100 μ M的范围, 孵育时间可选择10~90 min。孵育可在37℃或室温进行, 要求避光。
- 3) 孵育结束后, 用新鲜溶液清洗细胞或组织。

荧光显微照相操作方法:

- 1) 对贴壁生长细胞或活组织, 可直接在荧光显微镜下观察; 对悬浮生长细胞, 取25-50 μ l细胞悬液滴到一张显微载玻片上, 再盖上一张盖玻片。
- 2) 荧光显微镜下, 用蓝光或绿光激发, 观察和拍摄细胞红色发射图像, ROS阳性细胞在整个核区被染成红色; 用紫外光激发时, 胞浆中未氧化的二氢乙啶可发出蓝色荧光。

流式细胞分析操作方法:

- 1) 对贴壁生长细胞, 用胰酶消化制备成单细胞悬液; 对悬浮生长细胞, 直接收集细胞。用0.5~1 ml冰冷PBS重悬细胞(5~10万)。
- 2) 采用480~535 nm波长激发, 测定590 nm~610 nm以上的发射, 细胞应可分成两个亚群: ROS阴性细胞仅有很低的荧光强度, ROS阳性细胞有较强的红色荧光。

注意事项:

- 1) 二氢乙啶在光照和空气中易被氧化，注意避光保存。
- 2) 该试剂可用于体外培养活细胞、培养或灌流组织及组织冰冻切片的检测。
- 3) 对不同的细胞和组织，应选择合适的孵育时间和浓度，以观察ROS的变化。