

## 组织活性氧 (ROS) 荧光法测试盒 (绿色) 说明书

(BN72751 荧光法 96 样)

### 一、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) 检测组织内的活性氧。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。

### 二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 110mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体μL×1 支	-20°C保存	低温时易结晶, 使用前可在 25°C 水浴至全部融解后使用。

### 三、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、研钵和冰。

### 四、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 组织样本: 取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取

② 液体样品: 澄清液体样本直接检测, 若浑浊则 12000rpm, 离心 10min 取上清液待测。

#### 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°C)。

③ 在黑色 96 孔板中依次加入 (整个过程尽量避光):

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
试剂一	2	2
样本	200	
提取液		200
混匀, 37°C避光孵育 30min 后于激发波长 488nm, 发射波长 525nm 处读取荧光值 F。荧光强度=F 测定-F 空白		

### 五、结果计算:

本产品仅用于科研

1、按照样本质量计算：

活性氧强度定义：每克组织每分钟产生的荧光强度定义为活性氧强度。

$$\text{活性氧强度(RFU/min/g)} = \text{荧光强度} \div T \div W \times V$$

2、按照样本蛋白浓度计算：

活性氧强度定义：每毫克组织蛋白每分钟产生的荧光强度定义为活性氧强度。

$$\text{活性氧强度(RFU/min/mg prot)} = \text{荧光强度} \div T \div Cpr \times V$$

3、按照液体体积计算：

活性氧强度定义：每毫升液体每分钟产生的荧光强度定义为活性氧强度。

$$\text{活性氧强度(RFU/min/mL)} = \text{荧光强度} \div T \div V1$$

**【注】**数据与质量和蛋白浓度的单位无关

W---样品质量，g；

T---反应时间，30 min；

V1---样本加入体积，0.2mL；

V---加入提取液体积，1 mL；

Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。