

细胞活性氧检测试剂盒 (DHR 123)

Cellular ROS Assay Kit (DHR 123)

产品编号	产品名称	规格
CG-HY-01	Cellular ROS Assay Kit (DHR 123)	100T

产品简介

活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 包括超氧化物、过氧化氢、羟自由基以及具有高氧化活性的活性氧代谢产物。活性氧主要由中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞为代表的免疫细胞受到刺激后产生, 其它体细胞在应激条件下线粒体电子传递异常也会产生活性氧。免疫细胞产生的活性氧能够抵御微生物的感染。在病理条件下, 过度产生的活性氧也会导致机体损伤和引发各种疾病。

DHR 123 (Dihydrorhodamine 123) 是活性氧检测的荧光探针, 可通过自由扩散进入细胞, 并与细胞内活性氧反应生成能够发射绿色荧光的 R 123 (Rhodamine 123) 而停留在细胞内, 可以用于细胞内活性氧的检测。从而用于病理生理研究或药物活性评价。本试剂盒利用能够刺激多种免疫细胞产生活性氧的佛波酯 (Phorbol-12-myristate-13-acetate, PMA) 为阳性对照。

试剂组成

组份编号	组份名称	规格	数量
CG-HY-01-1	DHR 123 Solution	120 μ l/管	1
CG-HY-01-2	PMA Solution	50 μ l/管	1
—	说明书	份	1

需要而未提供的试剂及器材

1. 细胞
2. 细胞培养用 PBS
3. 系列可调节量程移液器及吸头
4. 干净的试管、离心管及 24 孔板
5. 流式细胞仪

储存条件

-20°C 储存, 有效期 12 个月。

注意事项

1. DHR 123 Solution 请尽量避免反复冻融, 可以适当分装。
2. 初次使用试剂时, 请适当离心后使用。
3. 初次测定活性氧, 可取小鼠骨髓细胞, 1.0×10^6 细胞/孔, 接种到 24 孔板中, 加入 DHR 123 (稀释 1000

倍), 然后利用 PMA(稀释 1000 倍)刺激 1 小时, 检测活性氧作为阳性对照。

4. 本产品仅限专业人员用于科学研究, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 细胞接种及处理: 取需要测定的细胞, 利用培养基调整到合适浓度后, 接种到 24 孔板中。如果是贴壁细胞, 提前一天接种到 24 孔板中, 24 小时更换新鲜培养基。然后加入 DHR 123 探针(利用培养基稀释 1000 倍), 37°C 孵育 15 分钟, 然后加入活性氧产生刺激剂, 37°C 孵育一定时间。如果是评价药物活性, 可以在加入刺激剂前后加入药物共同孵育。具体检测体系设置如下表所示:

	对照组	刺激组
细胞	+	+
DHR 123 Solution	+	+
刺激剂	-	+

2. 孵育结束后, 收集细胞, 4°C、300 g 离心 5 分钟, 弃上清; 然后加入 1 ml 细胞培养用 PBS, 再次 4°C、300 g 离心 5 分钟; 0.5 ml PBS 重悬细胞, 进行流式细胞测定 (FITC 通道)。

数据处理

利用流式分析软件处理流式细胞检测源数据, 对各组样品细胞荧光分布作图或统计各组样品细胞平均荧光强度。如下图所示:

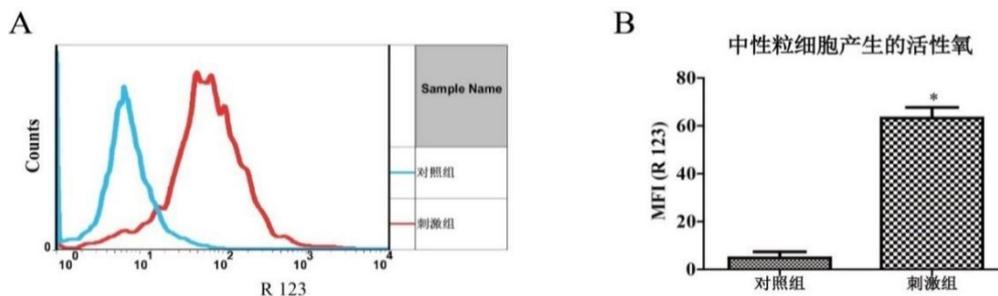


图 1: DHR 123 检测中性粒细胞产生的活性氧。取 BALB/c 小鼠骨髓细胞, 接种到 24 孔板中, 加入 DHR 123 探针后, 加入 PMA 刺激 1 小时, 然后收集细胞进行流式测定, 分析中性粒细胞活性氧的产生。* $P < 0.05$ vs 对照组。

参考文献

1. Tkalcevic J., Novelli M., Phylactides M., et al., 2000. Impaired immunity and enhanced resistance to endotoxin in the absence of neutrophil elastase and cathepsin G. *Immunity*, 12 (2): 201-210.
2. Pioch J., Blomgran R., 2022. Optimized flow cytometry protocol for dihydrorhodamine 123-based detection of reactive oxygen species in leukocyte subpopulations in whole blood. *J. Immunol. Methods*, 507: 113308.