



活性氧检测试剂盒 (红色荧光 DHE) Reactive Oxygen Species Assay Kit (Red Fluorescence DHE) 货号: C1300-2

产品描述:

活性氧包括超氧自由基 ($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢 (H_2O_2)、羟基自由基 ($\cdot OH$)、过氧亚硝基 ($ONOO^-$)、一氧化氮 ($\cdot NO$) 等, 参与了细胞增殖、发育分化、衰老和凋亡等多种生理和病理过程, 涉及到氧化应激、细胞凋亡和衰老、铁死亡等多种代谢通路。试剂盒利用荧光探针DHE进行活性氧检测。DHE可自由透过活细胞膜进入细胞内, 在细胞质中呈蓝色荧光 ($Ex/Em=370/420nm$), 当被细胞内的ROS氧化后, 脱氢形成溴化乙锭。溴化乙锭可以与RNA或DNA结合产生红色荧光, 使细胞核呈现明亮的红色 ($Ex/Em=518/610nm$), 荧光水平与细胞内活性氧水平成正比。

适用范围:

检测贴壁细胞、悬浮细胞、新鲜动物组织中的活性氧水平。

工作波长:

最佳激发波长518nm (也可以535nm), 最佳发射波长610nm, 也可按照PE或FL2通道检测。

所需设备:

流式细胞仪、荧光酶标仪、激光共聚焦显微镜等。

产品组成:

组分	规格	储存和效期
DHE (5mM)	0.2ml	-20°C避光保存, 一年有效
活性氧供体 (12mM H_2O_2)	0.5ml	

操作步骤:

一. 细胞样本

1. 细胞收集:

悬浮细胞: 2000rpm离心5min, 收集沉淀, 用1*PBS或无血清培养液洗涤2次, 1000rpm离心5min, 弃上清, 取细胞沉淀。

贴壁细胞: 吸去培养液, 用1*PBS或无血清培养液反复吹打, 使细胞层全部进入PBS或培养液中, 收集细胞悬液, 用1*PBS或无血清培养液洗涤2次, 1000rpm离心5min, 弃上清, 取细胞沉淀; 也可胰酶消化细胞。

2. 加入DHE探针, 同时设置阴性对照、阳性对照管。

样本管: 用1*PBS或无血清培养液稀释DHE探针重悬细胞沉淀, 一般情况下, 细胞密度要求 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^7/ml$, 推荐探针初始工作浓度为10uM (建议DHE工作浓度可在1uM~100uM范围内, 需预实验确定最适浓度)。

阴性对照: 不加探针, 只加用1* PBS或无血清培养液重悬的细胞。

阳性对照: 加入DHE荧光探针同时加入活性氧供体 H_2O_2 的细胞悬液, 推荐活性氧供体 H_2O_2 工作浓度20-100uM。

3. 37°C避光孵育细胞20~90分钟。通常情况下, 20-60分钟即可。**注意: 孵育时间长短与细胞类型、刺激条件、DHE浓度等有关。可每隔5min颠倒混匀一次, 使探针与样本充分接触。**

4. 1000g, 离心5min, 去上清收集细胞沉淀, 用1*PBS洗涤2次并重悬细胞。

5. 使用流式细胞仪、荧光酶标仪、激光共聚焦显微镜进行荧光检测, 以荧光度数值表示结果。

二. 动物组织样本

1. 单细胞悬液制备: 采用单细胞悬液制备仪或传统的组织处理方法如: 酶解法、研磨法等制备单细胞悬液;

2. 加入DHE探针, 同时设置阴性对照、阳性对照管。

样本管: 用1*PBS或无血清培养液稀释DHE探针重悬细胞沉淀, 一般情况下, 细胞密度要求 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^7/ml$, 推荐探针初始工作浓度为10uM (建议DHE工作浓度可在1uM~100uM范围内, 需预实验确定最适浓度)。

阴性对照: 不加探针, 只加用1*PBS或无血清培养液重悬的细胞。

阳性对照: 加入DHE荧光探针同时加入活性氧供体 H_2O_2 的细胞悬液, 推荐活性氧供体 H_2O_2 工作浓度20-100uM。

3. 37°C避光孵育细胞20~90分钟。通常情况下, 20-60分钟即可。**注意: 孵育时间长短与细胞类型、刺激条件、DHE浓度等有**



关。可每隔5min颠倒混匀一次，使探针与样本充分接触。

4.1000g，离心5min，去上清收集细胞沉淀，用1*PBS洗涤2次并重悬细胞。

5.使用流式细胞仪、荧光酶标仪、激光共聚焦显微镜进行荧光检测，以荧光度数值表示结果。

产品说明:

1.本试剂盒特别适用于贴壁细胞和悬浮细胞活性氧的检测。动物组织样本应尽量选择新鲜组织，如样本已经冻存，无法保证检测结果的可靠性。

2.稀释DHE可用1*PBS或无酚红培养基。血清或培养基的颜色并不会影响DHE及细胞内荧光的产生，但可能会影响荧光显微镜观察，干扰荧光分光光度计、荧光酶标仪或流式细胞仪的荧光测定。

3.加入DHE的时机和孵育时间，以最终能顺利检测细胞内活性氧为目的，**当细胞药物处理时间较短（如<2小时）或预计ROS效应较弱时，可将DHE在药物处理之前或者与药物同时加入到细胞培养基中**；反之当药物处理时间较长（如>6小时）或预计产生ROS效应较强时，可将DHE在药物处理之后再加入。

4.活性氧供体的细胞工作浓度为20-100uM或更低，当其浓度超过200uM时将产生细胞毒性。如果用户熟悉ROS荧光或实验没有必要采用阳性对照，可以不加该试剂。

相关产品推荐

货号	产品名称
C1300-1	活性氧检测试剂盒(绿色荧光 DCFH-DA)
E1046	组织细胞亚铁离子含量测定试剂盒
E1030	一氧化氮NO含量测定试剂盒
E2073	组织细胞氧化型谷胱甘肽GSSG含量测定试剂盒

使用本产品发表SCI文章节选:

- Xiao, X., Hu, M., Gao, L. et al. Low-input redoxomics facilitates global identification of metabolic regulators of oxidative stress in the gut. *Sig Transduct Target Ther* 10, 8 (2025) (IF:52.7)
- Liu Y, Zhao D, Yang F, et al. In Situ Self-Assembled Phytopolyphenol-Coordinated Intelligent Nanotherapeutics for Multipronged Management of Ferroptosis-Driven Alzheimer's Disease. *ACS Nano*. 2024 Mar 19;18(11):7890-7906. doi: 10.1021/acsnano.3c09286. Epub 2024 Mar 6. Erratum in: *ACS Nano*. 2024 Nov 19;18(46):32277-32278 (IF:15.8)
- Chen Y, Gao Y, Huo K, et al. Carrier-Free Nanocapsule with Dual-Target Capacity for Synergistically Restoring Inflammatory Microenvironment and Microbiota Dysbiosis in Colitis. *Adv Sci (Weinh)*. 2025 Oct;12(38):e00001 (IF:14.1)
- Jiawei Wang, Yihan Zhao, Xueying Yang, et al. Delayed progression of diabetic cataractogenesis and retinopathy by topical administration of highly biocompatible carbon dots derived from *Scutellaria barbata* and *Herba hedyotis diffusae*, *Chemical Engineering Journal*, Volume 525, 2025, 170369, ISSN 1385-8947 (IF:13.2)
- Zhang L, Shen H, Liu T, et al. A pH/GSH Dual-Responsive Triple Synergistic Bimetallic Nanocatalyst for Enhanced Tumor Chemodynamic Therapy. *Small*. 2025 Feb;21(8):e2409836. doi: 10.1002/sml.202409836. Epub 2025 Jan 10. PMID: 39797484 (IF:12.1)
- Zhang N, Zhang Y, Wu B, et al. Deacetylation-dependent regulation of PARP1 by SIRT2 dictates ubiquitination of PARP1 in oxidative stress-induced vascular injury. *Redox Biol*. 2021 Nov;47:102141. doi: 10.1016/j.redox.2021.102141. Epub 2021 Sep 20. PMID: 34555594; PMCID: PMC8461381 (IF:11.8)
- Yuan H, Xu Y, Luo Y, et al. Ganoderic acid D prevents oxidative stress-induced senescence by targeting 14-3-3ε to activate CaM/CaM-KII/NRF2 signaling pathway in mesenchymal stem cells. *Aging Cell*. 2022 Sep;21(9):e13686. doi: 10.1111/accel.13686. Epub 2022 Aug 5. Erratum in: *Aging Cell*. 2022 Dec;21(12):e13732. doi: 10.1111/accel.13732. PMID: 35929187; PMCID: PMC9470892 (IF:11.0)
- Zhang N, Zhang Y, Miao W, et al. An unexpected role for BAG3 in regulating PARP1 ubiquitination in oxidative stress-related endothelial damage. *Redox Biol*. 2022 Apr;50:102238. doi: 10.1016/j.redox.2022.102238. Epub 2022 Jan 17. PMID: 35066290; PMCID: PMC8783151 (IF:10.8)
- Li W, Zeng Q, Wang B, et al. Oxidative stress promotes oral carcinogenesis via Thbs1-mediated M1-like tumor-associated macrophages polarization. *Redox Biol*. 2024 Oct;76:103335 (IF:10.7)
- Yu, S., Shen, H., Chen, X. et al. A cascade nanosystem with "Triple-Linkage" effect for enhanced photothermal and activatable metal ion therapy for hepatocellular carcinoma. *J Nanobiotechnol* 22, 334 (2024) (IF:10.6)
- Wang J, Wu H, Zhao Q, et al. Aggregation-Induced Emission Photosensitizer Synergizes Photodynamic Therapy and the Inhibition of the NF-κB Signaling Pathway to Overcome Hypoxia in Breast Cancer. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2022 Jul 6;14(26):29613-29625 (IF:10.4)

扫描右侧二维码，可查看并下载产品最新引用文献

