ROS 荧光探针-DHE 说明书

货号：ID3560

保存：Powder:2-8℃，2 years;Insolvent(母液):-20℃，6 months;-80℃，1 year

产品简介

DHE 是一种最常用的细胞膜渗透性的超氧化物阴离子（O_2^-）荧光检测探针。可以直接用于活细胞的氧化活性检测，包括 ROS（活性氧）和超氧化物的检测。

DHE 是一种可渗透细胞的蓝色荧光探针，是过氧化物指示剂，可用于检测细胞内 superoxide radical anion，能有效地检测活性氧类。DHE 可以直接用于活细胞的标记。DHE 被活细胞摄入后，可以在细胞内的超氧化物阴离子作用下脱氢，产生 Ethidium。Ethidium 可以和 RNA 或 DNA 结合产生红色荧光。当细胞内的超氧化物阴离子水平较高时，产生的 Ethidium 较多，红色荧光就较强，反之则较弱。DHE 本身为蓝色荧光，最大激发波长为 370nm，最大发射波长为 420nm，脱氢后和 RNA 或 DNA 结合产生红色荧光，最大激发波长为 300nm，最大发射波长为 610nm，实际观察时也可以使用 535nm 作为激发波长。可用荧光显微镜和流式细胞仪等仪器检测。

一般的，用于细胞内超氧化物阴离子检测时，DHE 的常用浓度为 1-10 μM。

产品参数

CAS：104821-25-2

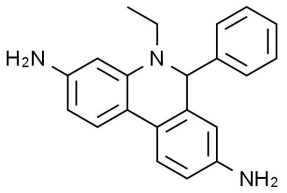
分子式：$C_{21}H_{21}N_3$

分子量：315.41

纯度：≥98%

外观：Solid

溶解性：Soluble in DMSO



使用说明（仅供参考）

制备储存液

用 DMSO 配制 1~10 mM 的储备液：例如：取 1mg DHE 粉末于 0.317 mL DMSO 中，得到 10mM DHE 储备液。

注：a. 未使用的储存液建议分装储存在-20℃，避免反复冻融

b. 发现较难溶解时可以用超声处理或适当加热以促进溶解

c. 吸湿的 DMSO 对产品的溶解度有显著影响，请使用新开封的 DMSO

工作液的配制

在无血清细胞培养基或合适的缓冲液（如：PBS 等）中稀释储液,配置成 1-10 μM 的 DHE 工作液。

注：a. 工作液最终浓度建议根据不同细胞系和实验体系来优化。

b. 发现较难溶解时可以适当超声处理以促进溶解。

c. 请根据实际情况调整工作液浓度，且现用现配。

细胞染色方法

(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或灌流液中加入探针至所需浓度。
(2) 依据细胞 ROS 含量的不同，DHE 终浓度可选择在 1 μM~100 μM 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。

荧光显微镜：

(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 μL 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 DHE 可发出蓝色荧光。

流式细胞仪：

(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. DHE 在光照和空气中易被氧化，注意避光保存。
2. 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。
3. 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。

相关产品

IH0060 Hoechst 33258
IH0070 Hoechst 33342
ID2250 DAPI dihydrochloride
IP5030 碘化丙啶
IE31207 溴化乙锭(1mg/ml in DMSO)