

# DCFH-DA 说明书

货号：ID3130

保存：Powder:-20°C,1 year;Insolvent(母液):-20°C,6 months;-80°C,1 year (protect from light)

## 产品简介

DCFH-DA 本身没有荧光，可以自由穿过细胞膜，进入细胞内后，可以被细胞内的酯酶水解生成 DCFH。而 DCFH 不能通透细胞膜，从而使探针很容易被装载到细胞内。细胞内的活性氧可以氧化无荧光的 DCFH 生成有荧光的 DCF。检测 DCF 的荧光就可以知道细胞内活性氧的水平。

DCFH-DA 是可渗透细胞，用于检测细胞内活性氧 (ROS) 的探针。DCFH-DA 不可用于切片或植物细胞。

## 产品参数

CAS : 4091-99-0

分子式:  $C_{24}H_{16}Cl_2O_7$

分子量: 487.29

溶解性: Soluble in DMSO

## 使用说明 (仅供参考)

### 1.制备储存液

用 DMSO 配制 10 mM 的储备液。如：4.8729mg DCFH-DA 粉末溶于 1mL DMSO 中。

注：a.未使用的储存液建议分装储存在-20°C，避免反复冻融。

b.吸湿的 DMSO 对产品的溶解度有显著影响，请使用新开封的 DMSO。

### 2.参数设置

使用 488nm 激发波长，525nm 发射波长，实时或逐时间点检测刺激前后荧光的强弱。DCF 的荧光光谱和 FITC 非常相似，可以用 FITC 的参数设置检测 DCF。

### 3.装载探针

对于刺激时间较短（通常为 2h 以内）的细胞，先装载探针，后用活性氧阳性对照或自己感兴趣的药物刺激细胞。对于细胞刺激时间较长（通常为 6h 以上）的细胞，先用活性氧阳性对照或自己感兴趣的药物刺激细胞，后装载探针。通常活性氧阳性对照在刺激细胞 20~30 分钟后可以显著提高活性氧水平。

#### 原位装载探针：本方法仅适用于贴壁培养细胞

按照 1 : 1000 用无血清培养液稀释 DCFH-DA，使终浓度为 10 $\mu$  mol/L。去除细胞培养液，加入适当体积稀释好的 DCFH-DA。加入的体积以能充分盖住细胞为宜，通常对于六孔板的一个孔加入稀释好的 DCFH-DA 不少于 1mL。37°C 细胞培养箱内孵育 20 分钟。用无血清细胞培养液洗涤细胞三次，以充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。

#### 收集细胞后装载探针：

按照 1 : 1000 用无血清培养液稀释 DCFH-DA，使终浓度为 10 $\mu$ mol/L。细胞收集后悬浮于稀释好的 DCFH-DA 中，细胞浓度为二百万至二千万/mL，37°C 细胞培养箱内孵育 20 分钟。每隔 3-5 分钟颠倒混匀一下，使探针和细胞充分接触。用无血清细胞培养液洗涤细胞三次，以充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。直接用活性氧阳性对照或自己感兴趣的药物刺激细胞，或把细胞等分成若干份后刺激细胞。

#### 4.检测

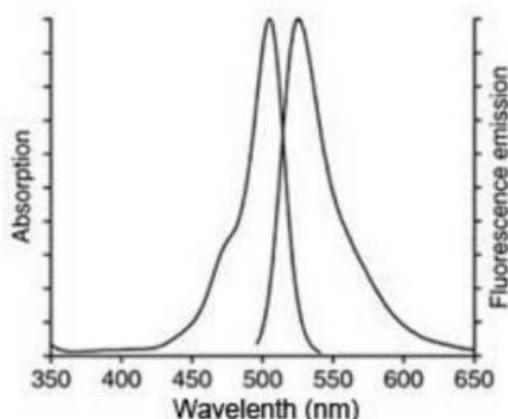
对于原位装载探针的样品可以用激光共聚焦显微镜直接观察，或收集细胞后用荧光分光光度计、荧光酶标仪或流式细胞仪检测。

对于收集细胞后装载探针的样品可以用荧光分光光度计、荧光酶标仪或流式细胞仪检测，也可以用激光共聚焦显微镜直接观察。

#### 注意事项

1. 探针装载后，一定要洗净残余的未进入细胞内的探针，否则会导致背景较高。
2. 探针装载完毕并洗净残余探针后，可以进行激发波长的扫描和发射波长的扫描，以确认探针的装载情况是否良好。DCF 的激发光谱和发射光谱请参考下图。
3. 尽量缩短探针装载后到测定所用的时间（刺激时间除外），以减少各种可能的误差。
4. 对于某些细胞，如果发现没有刺激的阴性对照细胞荧光也比较强，可以按照 1 : 2000~1 : 5000 稀释 DCFH-DA，使装载探针时 DCFH-DA 的浓度为 2~5 $\mu$ mol/L。探针装载的时间也可以根据情况在 15~60 分钟内适当进行调整。
5. 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。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. 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。

#### 光谱图



注：DCF 的激发光谱和发射光谱

#### 使用本产品发表的文献

[1]Tang Y, Wang K, Wu B, Yao K, Feng S, Zhou X, Xiang L. Photoelectrons Sequentially Regulate Antibacterial Activity and Osseointegration of Titanium Implants. *Adv Mater.* 2024 Jan;36(2):e2307756. doi: 10.1002/adma.202307756. Epub 2023 Nov 27. PMID: 37974525. (IF: 29.4)

[2]Wang Y, Zhang Y, Yang YP, Jin MY, Huang S, Zhuang ZM, Zhang T, Cao LL, Lin XY, Chen J, Du YZ, Chen J, Tan WQ. Versatile dopamine-functionalized hyaluronic acid-recombinant human collagen hydrogel promoting diabetic wound healing via inflammation control and vascularization tissue regeneration. *Bioact Mater.* 2024 Feb 14;35:330-345. doi: 10.1016/j.bioactmat.2024.02.010. PMID: 38379700 (IF: 18.9)

注：更多使用本产品的文献请参考索莱宝官网。