

GENMED 真菌/酵母细胞内氧化应激活性氧高质荧光测定试剂盒产品说明书（中文版）

主要用途

GENMED 真菌/酵母细胞内氧化应激活性氧高质荧光测定试剂是一种旨在通过透膜荧光染色剂氯甲基二氯二氢荧光素二乙酯，在细胞氧化条件下，产生荧光，来定量检测细胞内活性氧簇的生成和增加的权威而经典的技术方法。该技术由大师级科学家精心研制、成功实验证明的。其适用于各种实验用真菌/酵母菌株细胞内氧化应激活性氧的分析。可以被用于细胞凋亡、信号传递、衰老和代谢等的研究。产品严格无菌，即到即用，操作简易，活体检测，性能稳定，滞留持久，荧光清晰。

技术背景

真菌/酵母细胞是一种低等单细胞真核生物，具有细胞生长快，易于培养，遗传操作简单明了等原核生物的特点。作为模式生物，它具有比较完备的基因表达调控机制和表达产物的加工修饰能力，在分子遗传学方面认识最早，最先作为外源基因表达的细胞宿主。超氧自由基阴离子（superoxide radical; O_2^- ）、过氧化氢（hydrogen peroxide; H_2O_2 ）、羟自由基或氢氧基（hydroxyl radical; $OH^\cdot$ ）、过氧化基（peroxyl radical; $ROO^\cdot$ ）、氢过氧自由基（hydroperoxyl; $HOO^\cdot$ ）、烷氧自由基（alcoxyl radical）、氮氧基（nitric oxide; $NO^\cdot$ ）、过氧亚硝基阴离子（peroxynitrite anion; $ONOO^-$ ）次氯酸（hypochlorous acid; $HClO$ ）、半醌自由基（semiquinone radical）、单线态氧气（singlet oxygen）等细胞内活性氧簇（Reactive Oxygen Species; ROS）的产生和增多，将导致细胞衰老或凋亡。氯甲基二氯二氢荧光素二乙酯（6-chloromethyl-2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, acetyl ester; CM-H₂DCFDA）是取代二氯二氢荧光素二乙酯（2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate; DCFH-DA）的升级产品，一种完全自由通过细胞膜，并在细胞内长期滞留而不易外漏的染色剂。一旦被过氧化氢、羟自由基或氢氧基、过氧化基、次氯酸等氧化，便产生荧光。据此测定细胞内活性氧簇的浓度。

产品内容

GENMED 清理液（Reagent A）	毫升
GENMED 染色液（Reagent B）	微升
GENMED 稀释液（Reagent C）	毫升
产品说明书	1 份

保存方式

保存 GENMED 染色液（Reagent B）在 -20℃ 冰箱里，严格避免光照；其余的保存在 4℃ 冰箱里，有效保证 6 月

用户自备

1.5 毫升离心管：用于真菌/酵母染色的容器

载玻片：用于染色观察

微型台式离心机：用于沉淀真菌/酵母细胞

培养箱或恒温水槽：用于染色孵育

比色皿：用于荧光定量分析

（共聚焦）荧光显微镜：用于细胞荧光分析

细胞流式仪：用于细胞荧光分析

荧光分光光度仪：用于细胞荧光定量分析

实验步骤

实验开始前，将-20℃冰箱里的试剂盒中的 GENMED 染色液（Reagent B）置入冰槽里融化。然后移出 5 微升 GENMED 染色液（Reagent B）到新的 1.5 毫升离心管，加入 微升 GENMED 稀释液（Reagent C），混匀后，标记为 GENMED 染色工作液，置入冰槽里。然后进行下列操作。

1. 准备好 1 毫升新鲜的酵母菌液（OD₆₀₀=1 至 2；1 X 10⁷ 细胞/毫升）
2. 移入到 1.5 毫升离心管
3. 放进微型台式离心机离心 10 分钟，速度为 1000g（或 3000RPM，例如 eppendorf 5415）
4. 小心抽掉上清液
5. 加入 毫升预冷的 GENMED 清理液（Reagent A），混匀
6. 放进微型台式离心机离心 10 分钟，速度为 1000g（或 3000RPM，例如 eppendorf 5415）
7. 小心抽掉上清液
8. 重复实验步骤 5 至 7 一次
9. 加入 毫升含有 GENMED 染色液（Reagent B）和 GENMED 稀释液（Reagent C）的 GENMED 染色工作液，混匀（注意：参见注意事项 7）
10. 放进 28℃ 培养箱里或恒温水槽孵育 20 分钟，避免光照
11. 放进微型台式离心机离心 10 分钟，速度为 1000g（或 3000RPM，例如 eppendorf 5415）
12. 小心抽掉上清液
13. 加入 毫升预冷的 GENMED 清理液（Reagent A），混匀
14. 放进微型台式离心机离心 10 分钟，速度为 1000g（或 3000RPM，例如 eppendorf 5415）
15. 小心抽掉上清液
16. 加入 微升预冷的 GENMED 清理液（Reagent A），混匀
17. 放进冰槽里
18. 选择下列方式之一进行操作：
 - a) 即刻进行细胞流式仪分析：波长 488nm 氩离子激光，观察 50000 个细胞以上——波峰右移，表明活性氧族（ROS）含量高
 - b) 或使用（共聚焦）荧光显微镜观察（定性检测）：
 - 1) 移取 5 微升上述细胞悬液到载玻片上，盖上盖玻片
 - 2) 激发波长 490nm，散发波长 530nm——绿色荧光增强，表明活性氧族（ROS）含量高
 - c) 或使用荧光分光光度仪检测（定量检测）：
 - 1) 移取 500 微升上述细胞悬液到 1 毫升比色杯
 - 2) 加入 微升 GENMED 清理液（Reagent A）
 - 3) 上下倾倒混匀数次
 - 4) 放进荧光分光光度仪：激发波长 490nm，散发波长 530nm——

RFU 增高，表明活性氧族（ROS）含量高

注意事项

1. 本产品为 20 次操作
2. 操作时，须戴手套
3. 所有操作均须无菌状态下进行
4. 建议染色完成后，即刻进行荧光检测分析
5. 孵育时，必须避免光照
6. 本产品染色剂不易洗掉，染色持久
7. 根据不同菌株类型，可以调整 **GENMED 染色工作液** 的使用剂量（1：100 至 1：1000 容量比），避免过度染色
8. 本公司提供阳性对照甲萘醌溶液（GMS12041），观察细胞荧光增强现象
9. 本公司同时提供细胞内活性氧初级荧光测定试剂盒（GMS10016.8），满足不同用户需求
10. 本公司提供系列活性氧分析试剂产品

质量标准

1. 本产品经鉴定性能稳定
2. 本产品经鉴定荧光清晰

使用承诺

杰美基因秉着“信誉至上、客户满意、质量承诺”的宗旨为我们的用户提供优质产品和服务。用户收到货后，应按照产品说明书上的规定妥善保管并在有效期内使用。我们的产品在销售前已作严格的质量鉴定，保证说明书所述的使用效果。在货到后 10 天内若发现确属本产品的质量问题的，请立即以书面形式（实验报告）与本公司联系，并将该产品退回，经检验确系产品质量所致，本公司负责更换产品。如系使用者错误操作所致，本公司不承担由此造成的损失。

友情提醒

IF IT DOESN'T WORK, RECHECK YOUR EXPERIMENT TO SEE WHAT YOU DID WRONG.

订购信息

编号	名称	规格
GMS10016.7	GENMED 真菌/酵母细胞内氧化应激活性氧高质荧光测定试剂盒	20 次
GMS10016.7A	GENMED 清理液（Reagent A）	500 毫升
GMS10016.7B	GENMED 染色液（Reagent B）	1 毫升
GMS10016.7C	GENMED 稀释液（Reagent C）	1 毫升
GMS12041	GENMED 甲萘醌溶液（1 毫摩尔）	50 毫升
GMS10016.8	GENMED 真菌/酵母细胞内氧化应激活性氧初级荧光测定试剂盒	50 次

产品编号	名称	规格
GMS50001	超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒	50 次
GMS50002.1	超氧化物歧化酶（SOD）细胞裂解样品制备试剂盒	50 次
GMS50002.2	超氧化物歧化酶（SOD）组织裂解样品制备试剂盒	50 次
GMS50002.3	超氧化物歧化酶（SOD）红细胞裂解样品制备试剂盒	50 次
GMS50003.1	胞浆超氧化物歧化酶（Cu/Zn SOD）分离试剂盒	50 次
GMS50003.2	线粒体超氧化物歧化酶（Mn/Fe SOD）分离试剂盒	50 次
GMS50004	超氧化物歧化酶（SOD）标准曲线测定试剂盒	5 次
GMS10016.1	细胞内氧化应激活性氧（ROS）高质荧光测定试剂盒	20 次
GMS10016.2	细胞内氧化应激活性氧（ROS）初级荧光测定试剂盒	100 次
GMS10016.3	活体组织氧化应激活性氧（ROS）高质荧光测定试剂盒	8/20 次
GMS10016.4	活体组织氧化应激活性氧（ROS）初级荧光测定试剂盒	40/100 次
GMS10016.5	冰冻切片氧化应激活性氧（ROS）高质荧光测定试剂盒	50 次
GMS10016.6	冰冻切片氧化应激活性氧（ROS）初级荧光测定试剂盒	50 次
GMS10016.7	真菌/酵母细胞内氧化应激活性氧（ROS）高质荧光测定试剂盒	20 次
GMS10016.8	真菌/酵母细胞内氧化应激活性氧（ROS）初级荧光测定试剂盒	50 次
GMS10067.1	活体细胞氧化应激活性氧（ROS）染色试剂盒	100 次
GMS10067.2	冰冻切片氧化应激活性氧（ROS）染色试剂盒	100 次
GMS10067.3	活体细胞氧化应激活性氧（ROS）比色法定量检测试剂盒	100 次
GMS10111.1	细胞内氧化应激活性氧（ROS）红色荧光测定试剂盒	20 次
GMS10111.2	冰冻切片氧化应激活性氧（ROS）红色荧光测定试剂盒	20 次
GMS10104.1	纯化线粒体氧化应激活性氧（ROS）高质荧光测定试剂盒	20 次
GMS10104.2	纯化线粒体氧化应激活性氧（ROS）初级荧光测定试剂盒	20 次
GMS10104.3	膜电位依赖性纯化线粒体氧化应激活性氧（ROS） 高质荧光测定试剂盒	20 次
GMS10104.4	呼吸链依赖性纯化线粒体氧化应激活性氧（ROS） 高质荧光测定试剂盒	20 次
GMS10104.5	膜电位依赖性纯化线粒体氧化应激活性氧（ROS） 初级荧光测定试剂盒	20 次
GMS10104.6	呼吸链依赖性纯化线粒体氧化应激活性氧（ROS） 初级荧光测定试剂盒	20 次
GMS10053.1	细胞总抗氧化能力（TAC）化学发光定量检测试剂盒	50 次
GMS10053.2	组织总抗氧化能力（TAC）化学发光定量检测试剂盒	50 次
GMS10053.3	食物总抗氧化能力（TAC）化学发光定量检测试剂盒	50 次
GMS10053.4	体液总抗氧化能力（TAC）化学发光定量检测试剂盒	50 次
GMS10017.1	活体细胞线粒体损伤/氧化（NAO）荧光测定试剂盒	20/80 次
GMS10096	细胞超氧化物阴离子化学发光法定量检测试剂盒	20 次

联系我们

关于订购详情或技术支持，欢迎来电、来函、传真或电邮——

GENMED SCIENTIFICS INC. U.S.A 大中华区上海分公司

上海杰美基因医药科技有限公司

上海市浦东新区张江高科技园区哈雷路 1011 号 301 室

邮编: 201203

技术部电话: +86 (021) 58559577 X 101; 13661801385

市场部电话: +86 (021) 58559577 X 102; 13311661756

订购电话: +86 (021) 58559577 X 104

传真: +86 (021) 58559383

Email: info@sh-genmed.com

主页: www.sh-genmed.com

GENMED SCIENTIFICS INC. U.S.A

438 MASS AVENUE, SUITE 223

ARLINGTON, MA 02474

U.S.A.

TEL: 1-781-643-5940