

CheKine™ 活性氧 (ROS) 含量检测试剂盒 (荧光酶标仪法)

货号: KTB1912

规格: 50 T / 100 T

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 是氧正常代谢的天然副产物, 在细胞信号传导和体内平衡中起重要作用。但是, 在氧化应激相关状态下, ROS 水平可以显著升高。ROS 的积累会严重破坏细胞结构。氧化应激在心血管疾病, 糖尿病, 骨质疏松症, 中风, 炎症性疾病, 以及神经退行性疾病和癌症的研究发挥重要的作用。ROS 检测将有助于确定氧化应激如何调节各种细胞内途径。

本试剂盒检测原理是利用荧光探针 DCFH-DA 进行活性氧检测, DCFH-DA (2',7'-二氯荧光素二乙酸酯) 被酯酶水解形成无荧光的 DCFH, DCFH 被活性氧 (ROS) 氧化生成有荧光的 DCF, DCF 荧光强度与样本内活性氧水平成正比, 测定反应液中 DCF 的荧光强度即可反映样本中 ROS 的水平。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	50 T	100 T	
Reagent I	75 mL	75 mL×2	-20℃, 避光保存
Reagent II	10 µL	20 µL	-20℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	荧光酶标仪	能测 Ex/Em=488/525nm 处的荧光值
耗材	96 孔酶标板	全黑酶标板或全白酶标板
试剂	PBS	样本清洗用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、制冰机、低温离心机、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	-20℃避光保存, 实验过程中冰上避光放置；分装避光保存于-20℃，避免反复冻融
Working Reagent II	临用前配制；按照用量将 Reagent II 用 Reagent I 稀释 50 倍后使用，稀释好的 Working Reagent II 不可重复使用。	-20℃避光保存, 实验过程中冰上避光放置；用不完的 Reagent II 分装避光保存于-20℃，避免反复冻融

05-2 样本制备

注意：本试剂盒也可用于检测冻存的组织样本，推荐使用新鲜样本效果更佳。

- 动植物组织：称取 0.1 g 组织加入 1 mL Reagent I 将样本进行冰浴匀浆。4℃，8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。
- 细胞样本：收集 5×10⁶ 个细胞，用预冷的 PBS 清洗 1 次，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL Reagent I 进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s）。4℃，8000 g 离心 10 min 后，取上清置于冰上待测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节荧光激发波长 488 nm，发射波长 525 nm。
2. 检测体系配制：在 96 孔全黑或全白板中按照如下方式操作

试剂	测定孔 (μL)	空白孔 (μL)
样本	195	0
Reagent I	0	195
Working Reagent II	5	5

3. 荧光值检测：充分混匀，37℃避光孵育 20 min。于激发波长 488 nm，发射波长 525 nm 处检测荧光强度，分别标记为 RFU_{测定} 和 RFU_{空白}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta\text{RFU} = \text{RFU}_{\text{测定}} - \text{RFU}_{\text{空白}}$

2. 样本 ROS 计算

● 按样本质量计算

$\text{ROS (RFU/g)} = \Delta\text{RFU} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{提}} \times W) \times n = 5.13 \times \Delta\text{RFU} \div W \times n$

● 按细胞数量计算：

$\text{ROS (RFU}/10^4) = \Delta\text{RFU} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{提}} \times 500) \times n = 0.0103 \times \Delta\text{RFU} \times n$

● 按蛋白浓度计算

$\text{ROS (RFU/ mg prot)} = \Delta\text{RFU} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times n = 5.13 \times \Delta\text{RFU} \div \text{Cpr} \times n$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本，0.195 mL； $V_{\text{提}}$ ：样本提取体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g；500：细胞总数， 5×10^6 ，以 10^4 为单位；n：样品稀释倍数。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 小鼠脑，按照测定步骤操作，用 96 孔全黑酶标板进行检测。测得 $\Delta\text{RFU} = \text{RFU}_{\text{测定}} - \text{RFU}_{\text{空白}} = 6193 - 26 = 6167$ 。按样本质量计算得： $\text{ROS (RFU/g)} = 5.13 \times \Delta\text{RFU} \div W \times n = 316367 \text{ RFU/g}$

08 FAQ

● 检测得到的样本 ΔRFU 过高或者过低怎么办？

如果样本 ΔRFU 过高说明样本 ROS 含量太高，可用 Reagent I 进一步稀释样本，计算结果乘以稀释倍数；或减少孵育时间（不少于 15 min）。如果 ΔRFU 过低说明样本 ROS 含量太少，可适当增加样本量；或增加孵育时间（不多于 25 min）。

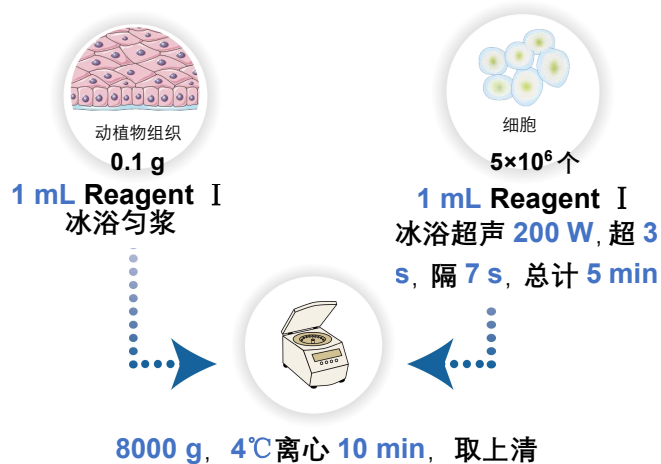
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB9300	CheKine™ Pro 葡萄糖含量检测试剂盒（荧光法）
KTB9041	CheKine™ Pro 过氧化氢（H ₂ O ₂ ）含量检测试剂盒（荧光法）
KTB1910	CheKine™ 活性氧（ROS）含量检测试剂盒（荧光法）

CheKine™ 活性氧 (ROS) 含量检测流程示意图

(Abbkine 货号: KTB1912)

样本处理



体系配置



37℃ 避光孵育 20 min

数据检测

Ex/Em=488 nm/525 nm
检测荧光强度
结果计算