

ROSGreen™ H2O2 Probe 过氧化氢荧光探针

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5985-1mg	ROSGreen™ H2O2 Probe 过氧化氢荧光探针	1mg

产品简介:

过氧化氢 (Hydrogen peroxide, H₂O₂) 是一种反映氧代谢副产物, 用于许多氧化应激相关态的关键调节剂, 参与人体大量的生理和病理活动, 比如哮喘、动脉粥样硬化、糖尿病血管病变、神经性衰退疾病和唐氏综合征等, 但目前对 H₂O₂ 生成、积累、运输和功能的分子机制仍了解很少, 最大的限制在于缺乏灵敏且特异性 H₂O₂ 探针, 用于活细胞研究。目前能得到的 H₂O₂ 反应性探针的缺陷包括 1) 来自其他 ROS 比如过氧亚硝基阴离子(ONOO⁻)、过氧化基 (ROO[•])、超氧化物 (•O₂⁻) 的背景荧光干扰; 2) 对外源活化酶的需求; 3) 水缺乏水溶性或不兼容于水溶体系; 4) 以及紫外区域的激发光谱特征等。

本 ROSGreen™H₂O₂Probe 正是克服以上缺陷开发的一款过氧化氢 (H₂O₂) 选择性探针。探针本身无荧光, 可见光区域内无吸收峰。一旦接触 H₂O₂, 瞬间激发荧光增加并伴随可见波长吸收带的生成 (Ex/Em= 490/514nm)。因其二元的吸收/发射荧光反应, 此探针具有较大的动力学范围。与相似的 ROS 比如 O₂⁻, NO, 或 OCl⁻相比, ROSGreen™H₂O₂Probe 对 H₂O₂ 呈现出 > 100 倍 (100-fold) 的选择性。

保存条件:

-20°C 避光干燥保存, 至少 1 年有效。

产品使用:

1、储存液制备

将低温保存的产品从冰箱取出, 置于室温回温至少 20min。低速离心 3-5min。之后往瓶内加入适量无水 DMSO 充分溶解配成 2~5mM 储存液 (比如, 1mg ROSGreen™H₂O₂ Probe (Mw: ~ 600) 加入 333μl DMSO, 充分溶解混匀后即得到 5mM 储存液)。按照单次用量分装冻存, 避免反复冻融, 至少 3 个月稳定。

2、工作液准备

正式实验前, 或取粉末按照【储存液制备】用 DMSO 溶解, 或于室温融化一管 DMSO

储存液。

2.1 对于溶液 H₂O₂ 测定，按照 2~20μM 工作液浓度制备 2×工作液，用 20mM Hepes 缓冲液或其他缓冲液 (pH 7.0) 稀释储存液。工作液现配现用。建议使用 5μM 终浓度的 ROSGreen™H₂O₂Probe，测定溶液体系中 H₂O₂ 浓度。

2.2 对于细胞 H₂O₂ 测定，按照 2~20μM 工作液浓度制备 1×工作液，用含 20mM Hepes 缓冲液的 HBSS，pH 7.0 或 PBS 稀释储存液。工作液现配现用。

3、上清液 H₂O₂ 测定

【以下为溶液 H₂O₂ 测定的推荐步骤，仅作参考，请根据具体需求做优化调整。】

3.1 于 96 孔板，加 50μl 2×ROSGreen™H₂O₂Probe 工作液到每个孔 (H₂O₂ 标准、空白对照、待测样本) 内使总的测定体积为 100μl/孔。【注意：对于 384 孔板，加 25μl 样品和 25μl 2×ROSGreen™H₂O₂Probe 工作液，使得测定体积为 50μl/孔。】

3.2 室温避光孵育反应体系 15~60min。

3.3 荧光酶标板内监测用荧光增强，Ex/Em=490/525nm。

3.4 空白孔 (只含有反应缓冲液) 的荧光用作对照，其他孔的荧光值需减掉空白对照孔荧光。

4、活细胞 H₂O₂ 测定

【ROSGreen™H₂O₂Probe 能主动扩散进入活细胞，且能反映胞内 H₂O₂ 微摩尔浓度变化。以下是推荐的活细胞 H₂O₂ 显微成像检测步骤，仅作参考，可根据具体需求优化调整。】

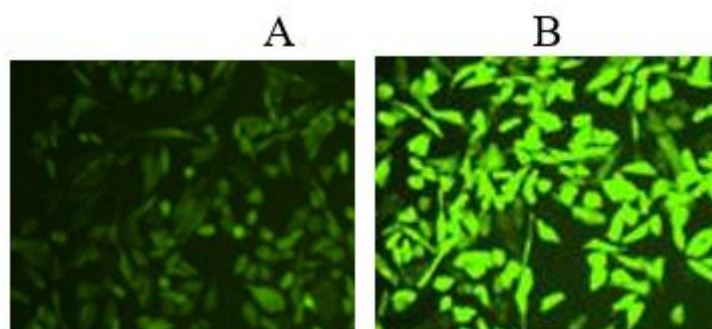
4.1 按照步骤 2.2 配制 1×ROSGreen™H₂O₂Probe 工作液。工作液现配现用。

4.2 按照实验要求处理细胞。

4.3 用 1×ROSGreen™H₂O₂Probe 工作液避光孵育细胞 5~60min 或适合自身需求的时间。用 PBS 清洗细胞 2 次。

4.3 用荧光酶标板 (底部读数模式) 监测荧光增强，Ex/Em=490/525nm。或者用荧光显微镜的 FITC 通道成像检测荧光增强。

染色示例：



Costar 黑色 96 孔培养板内 CHO-K1 活细胞用 ROSGreen™H₂O₂Probe 的染色图。

图 A：对照细胞；图 B：用 H₂O₂ (100μM) 处理 5min 后的细胞。

注意事项：

1. 本品的 DMSO 储存液需分装成单次用量后，-20℃ 避光保存，避免反复冻融。所有工作液现配现用。
2. 整个操作过程中注意避光。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS6701</u>	<u>Reactive Oxygen Species (ROS) Assay Kit 活性氧 (ROS) 检测试剂盒</u>	100~500T
<u>NBS6702-10mg</u>	<u>H2DCFDA (DCFH-DA) 活性氧 (ROS) 荧光探针</u>	10mg
<u>NBS6703-1mg</u>	<u>Dihydrorhodamine 123 (DHR 123) 二氢罗丹明 123</u>	1mg
<u>NBS6704-1mg</u>	<u>Aminophenyl fluorescein (APF) 氨基苯基荧光素</u>	1mg
<u>NBS6705-1mg</u>	<u>Hydroxyphenyl fluorescein (HPF) 羟苯基荧光素</u>	1mg
<u>NBS5985-1mg</u>	<u>ROSGreen™ H2O2 Probe 过氧化氢荧光探针</u>	1mg