



活性氧检测试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100143

产品介绍

活性氧检测试剂盒是一种利用荧光探针 DCFH-DA 进行活性氧检测的试剂盒。DCFH-DA（2',7'-二氯荧光素二乙酸酯）是一种常用的细胞活性氧荧光探针，具有细胞膜渗透性，本身无荧光，进入细胞后被酯酶水解生成 DCFH，随后被活性氧化为强荧光产物 DCF，其荧光强度与细胞内活性氧水平成正比。

产品目录

产品名称	规格
活性氧检测试剂盒	100 次

产品组成

组分	100 次
DCFH-DA（10mM）	100μL
活性氧诱导剂（1000×	100μL

产品用途

本试剂盒适用于细胞内活性氧水平检测。

产品特点

- 1. 便捷高效：操作简便，稀释即可使用，孵育时间短。
- 2. 灵敏精准：采用荧光探针技术，其荧光信号强度与活性氧水平呈线性相关，背景干扰低，结果稳定可靠。
- 3. 兼容性强：支持荧光显微镜、流式细胞仪、荧光酶标仪等多种检测方法。

注意事项

- 1. 探针装载时间控制在 15 ~ 60min（常规细胞 30min），避免时间过长可能引起探针自发氧化。
- 2. 探针装载后，需洗净未进入细胞内的探针溶液，避免背景偏高。
- 3. 缩短装载探针后到测定所用的时间，以减少误差。
- 4. 本产品仅限于专业人员的科学研究，不得用于临床诊断或治疗。
- 5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套及口罩操作。

操作步骤

一、装载探针

对于刺激时间较短（通常为 2 h 以内）的细胞，建议先装载探针，后用待测样品或活性氧诱导剂处理细胞。
对于刺激时间较长（通常为 6 h 以上）的细胞，建议先用待测样品或活性氧诱导剂处理细胞，后装载探针。

1. 原位装载探针（仅适用于贴壁细胞）

- 1.1 将待测细胞提前 1 天接种于 24 孔板中，确保检测时细胞密度在 50% ~ 70%。
- 1.2 配制 DCFH-DA 工作液：使用 PBS 缓冲液或无血清培养基稀释荧光探针，每 1mL PBS 缓冲液或无血清培养基加入 1μL DCFH-DA（10mM）母液，24 孔板每孔需要 1mL DCFH-DA 工作液。
- 1.3 去除培养基，使用 PBS 缓冲液洗涤 3 次。
- 1.4 将孔板内残留液体去除干净，每孔加入 1mL DCFH-DA 工作液，37℃ 细胞培养箱孵育 15 ~ 60min。
- 1.5 孵育结束后，去除 DCFH-DA 工作液，使用 PBS 缓冲液洗涤细胞 3 次，以去除残留荧光探针。
- 1.6 加入 1mL PBS 缓冲液或无血清培养基，进行活性氧诱导或直接检测。

修订日期：2026-08-13



2. 收集细胞后装载探针（适用于悬浮细胞和贴壁细胞）

- 2.1 配制 DCFH-DA 工作液：使用 PBS 缓冲液或无血清培养基稀释荧光探针，每 1mL PBS 缓冲液或无血清培养基加入 1μL DCFH-DA（10mM）母液，每组需要 1mL DCFH-DA 工作液。
- 2.2 收集适量细胞离心弃上清，每组需要 $5 \times 10^5 \sim 2 \times 10^6$ 个细胞，使用 PBS 缓冲液洗涤 3 次。
- 2.3 每组细胞使用 1mL DCFH-DA 工作液重悬，37°C 细胞培养箱孵育 15 ~ 60min。
- 2.4 孵育结束后，离心去除 DCFH-DA 工作液，使用 PBS 缓冲液洗涤细胞 3 次，以去除残留荧光探针。
- 2.5 加入 1mL PBS 缓冲液或无血清培养基重悬细胞，进行活性氧诱导或直接检测。

二、活性氧诱导

- 1. 根据实验需求使用待测样品处理细胞，以诱导活性氧生成。
- 2. 取 1μL 活性氧诱导剂（1000×）加入阳性对照组作为活性氧对照，诱导时间不同细胞存在一定差异，通常在 0.5~2h 之间。

三、检测

使用荧光显微镜、流式细胞仪、荧光酶标仪等仪器检测信号强度。
激发波长 488nm，发射波长 525nm，实时或逐时间点检测处理前后荧光的强弱。DCF 的荧光光谱和 FITC 非常相似，可以用 FITC 的参数设置检测 DCF。

■ 储存及运输条件

-25 ~ -15°C，有效期 1 年。DCFH-DA（10mM）须避光保存。干冰运输。

■ 常见问题及解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
荧光信号弱或无信号	荧光探针降解	适当分装冻存，避免反复冻融。
	细胞酯酶活性低（如某些肿瘤细胞系）	提高探针浓度或延长孵育时间。
	活性氧浓度偏低	优化活性氧诱导条件。
背景荧光过高	细胞活性差	优化探针装载条件，更换不同孵育体系。
	培养基中血清干扰	更换无血清培养基或降低血清至 0.5%。
	探针自发氧化	加入 10mM NAC（抗氧化剂）作为背景对照。