

活性氧 (ROS) 荧光探针 H2DCFDA (DCFH-DA)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS6702-10mg	H2DCFDA (DCFH-DA) 活性氧 (ROS) 荧光探针	10mg
NBS6702-50mg	H2DCFDA (DCFH-DA) 活性氧 (ROS) 荧光探针	50mg
NBS6702-250mg	H2DCFDA (DCFH-DA) 活性氧 (ROS) 荧光探针	250mg

产品简介:

H2DCFDA (DCFH-DA), 英文全称为 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate, 中文全称为 2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯, 是一种常用的氧化应激指示剂。该探针具有细胞膜通透性, 本身无荧光。进入细胞后, 被胞内酯酶水解生成 2',7'-二氯二氢荧光素 (2',7'-Dichlorodihydrofluorescein, DCFH), 随后被活性氧快速氧化为强荧光产物 2',7'-二氯荧光素 (2',7'-Dichlorofluorescein, DCF), 可通过荧光光谱法检测 (Ex/Em = 504/529 nm)。

本品主要用于检测活性氧 (ROS) 及评估细胞总氧化应激水平, 广泛应用于细胞氧化还原状态的研究。本品以粉末形式提供, 可直接溶于无水 DMSO 配制成 1–10 mM 储存液; 常用工作浓度为 1–10 μ M, 具体浓度需根据实验体系或参考文献进行优化。

对于样本量有限、注重操作简便性的实验场景, 建议选用我司[活性氧检测试剂盒 \(货号 NBS6701\)](#)。该试剂盒除荧光探针 H2DCFDA 外, 还配套阳性对照, 可有效简化实验流程。

化学信息:

- 1) CAS NO.: 4091-99-0
- 2) 化学名: Benzoic acid, 2-(3,6-bis(acetyloxy)-2,7-dichloro-9H-xanthen-9-yl)
2-(3,6-diacetoxy-2,7-dichloro-9H-xanthen-9-yl)benzoic acid
- 3) 英文同义名: DCFH-DA; 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate;
2,7-Dichlorodihydrofluorescein diacetate
- 4) 中文同义名: 2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯; 2,7-二氯二氢荧光素二乙酸酯
- 5) 分子式: $C_{24}H_{16}Cl_2O_7$

- 6) 分子量: 487.29
- 7) 纯度: $\geq 97\%$
- 8) 外观: 白色至带黄色光泽的白色粉末
- 9) 溶解性: 溶于 DMSO (25 mg/ml)、DMF (25 mg/ml)、无水乙醇 (25 mg/ml)

保存条件:

-20°C保存 (两年有效)

产品使用 (需根据具体应用场景及检测灵敏度进行优化调整):

1. 储存液配制

将低温保存的冻干粉恢复至室温, 低速离心使粉末聚集于瓶底。加入适量无水 DMSO 或其他有机溶剂, 配制成 1–10 mM 储存液。未用完的储存液需分装、避光, 于 -20°C 冻存, 避免反复冻融。

2. 工作液配制

正式实验前, 用生理缓冲液 (如 PBS、HBSS、HEPES 缓冲液) 将储存液稀释至 1–10 μ M 工作浓度。具体浓度需根据实验体系优化确定。

3. 细胞染色

吸去培养液, 加入步骤 2 配制的工作液, 于 37°C (或根据细胞类型调整) 孵育 5–60 min。

4. 去酯化与平衡

吸去染色工作液, 用预热的生理缓冲液或培养液清洗细胞。重新加入预热的缓冲液或培养液, 于适宜温度下继续孵育。二乙酸酯类探针需经胞内酯酶水解 (去酯化) 后才能响应氧化应激。最佳去酯化时间因细胞类型而异, 某些细胞酯酶活性较低, 需适当延长孵育时间。

5. 基线测定

在加入实验刺激物前, 测定已加载细胞的背景荧光强度作为基线。

6. 阴性对照设置

按以下要求评估阴性对照:

- 1) 在绿色通道 (绿色发射光谱范围) 内检测未染色细胞的自发荧光;
- 2) 流式分析时, 确认染料加载及处理后细胞的前向角散射 (FSC) 和侧向角散射 (SSC) 无明显变化 (细胞尺寸改变可能提示处理毒性导致的起泡或萎缩);
- 3) 对含或不含刺激物的无细胞染料-缓冲液/培养基混合物进行荧光检测。在无细胞体系

中，若随时间推移荧光逐渐增强，可能源于探针自发水解、空气氧化或光诱导氧化；

- 4) 检测培养于生长培养基或简单缓冲液中的未处理、已加载染料细胞的荧光。健康细胞内的酶系及天然抗氧化剂可清除 ROS，经去酯化后应呈现较低且稳定的荧光信号。

若自发出现强荧光，提示细胞死亡或其他氧化应激事件。

7. 阳性对照设置

可采用以下方式诱导氧化应激：

- 1) PKC 激活剂 / 佛波酯类（如 PMA，常用浓度 10 nM–1 μ M）；
- 2) H₂O₂ 或 TBHP（终浓度约 100 μ M，根据细胞敏感性调整）。

8. 光谱干扰排查

确保刺激物/受试化合物不会通过内滤效应或荧光淬灭干扰检测。核查化合物吸收光谱，确认其吸收峰不与氧化后染料（DCF）的激发/发射峰（Ex/Em = 504/529 nm）重叠。

注意事项：

1. 储存液（如以 DMSO 配制）建议分装为单次用量，-20℃ 避光冻存，切勿反复冻融。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品：

货号	名称	规格
NBS6701	Reactive Oxygen Species (ROS) Assay Kit 活性氧 (ROS) 检测试剂盒	1000T
		10mg
NBS6702	<u>H2DCFDA (DCFH-DA, DCFH) 活性氧 (ROS) 荧光探针</u>	50mg
		250mg
		1mg
NBS6703	<u>Dihydrorhodamine 123 (DHR 123) 二氢罗丹明 123</u>	10mg
		50mg
NBS6704	<u>Aminophenyl fluorescein (APF) 氨基苯基荧光素</u>	1mg
NBS6705	<u>Hydroxyphenyl fluorescein (HPF) 羟苯基荧光素</u>	1mg

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！