

版本号：DE240627

## 2', 7' -二氯荧光素二乙酸酯 (H2DCFDA)

**产品储存：** -20°C保存，干燥，避光

**产品货号 and 规格：** CD4562-100 mg

### 产品参数：

CAS: 4091-99-0

英文名称: H2DCFDA

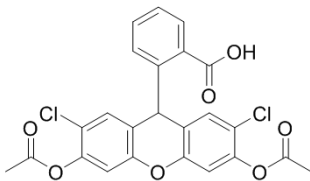
英文别名: H2DCFH-DA, 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate

分子式:  $C_{24}H_{16}Cl_2O_7$

分子量: 487.29

外观 (性状): 类白色至淡黄色粉末

溶解性: 溶于 DMSO (25 mg/mL)、DMF (25 mg/mL)、无水乙醇 (25 mg/mL)



### 产品说明：

2', 7'-二氯荧光素二乙酸酯 (H2DCFDA) 是一种通用的氧化应激指示剂。具细胞膜渗透性，本身无荧光。适用于检测活性氧 (ROS) 和一氧化氮 (NO)，以及确定总的氧化应激水平。普遍用来监测细胞氧化还原过程。

### 使用说明 (仅供参考)：

1. 将低温保存的冻干粉取出回至室温。将粉末溶于 DMSO 或其他有机溶剂配制成 1-10 mM 储存液。未用完的 DMSO 储存液需分装并避光保存于 -20°C，避免反复冻融。
2. 于正式实验前，用生理盐缓冲液 (如 PBS, HPBS, HEPES) 稀释到工作浓度 1-10  $\mu$ M。需根据具体实验来调整合适的工作浓度。

3. 吸去培养液，加入**步骤 2** 配制的染色工作液到细胞内，室温或 30°C 孵育 5~60 min。
4. 吸去染色工作液，用预热的生理缓冲液或细胞培养液清洗一遍。重新加入预热的生理缓冲液或细胞培养液，在适宜温度内孵育。对于二乙酸酯衍生物，需要短暂复原时间让细胞内酯酶将其水解，从而让染料对氧化应激产生反应。最佳的复原时间范围很广，由于某些细胞类型通常显示极其低水平的酯酶活性。
5. 将细胞暴露于实验刺激物之前，先测定加载细胞的背景荧光强度。

#### 6. 根据以下情况评估阴性对照

- 1) 绿色发射光谱内检查未染色细胞的自荧光情况。
- 2) 对于流式分析，查明染料加载和处理后细胞的前向角散射和侧向角散射是不变。细胞尺寸的变化可能与起泡或萎缩有关，由于处理或有毒反应引起的。
- 3) 对包含和不包含刺激物的染料和缓冲液/培养基的无细胞混合物进行荧光检测。在不含细胞外酯酶和其他氧化酶的情况下，随着时间荧光的逐渐增加可能与瞬间水解、空气氧化和光诱导氧化有关。
- 4) 检查培养在生长培养液或简单缓冲液内的未处理加载细胞（对照）的荧光。在健康细胞内，细胞内酶或天然氧化剂会清除这些氧自由基。经过染料加载复原时间后，健康细胞应该表现出低水平的荧光信号，且在整个实验期间相对稳定。然而，逐渐增加（由于自氧化）或降低（由于细胞内染料丧失或光淬灭）也有可能观察到。在不含任何刺激物或诱导剂的体系内，健康和未处理细胞突然发现强荧光，表明细胞发生死亡或一些其他的氧化事件。

#### 7. 建立阳性对照，可能用以下方法刺激氧化活性：

- 1) 肿瘤促进剂（PMA，工作浓度 100 pM~10 μM）
  - 2) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 或 TBHP（终浓度 100 μM）（根据细胞本身对其的灵敏度和反应性来提高或降低浓度）
8. 确保刺激药物或化合物不会引起染料荧光淬灭。检查化合物的吸收光谱，确定化合物的吸收峰不会与氧化后染料的最大激发或发射光谱发生重叠。

#### 注意事项：

1. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。
2. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。