

单线态氧检测试剂盒(SOSG)

产品货号：26729

产品规格：30-300次

产品简介：

乐业研发生产的单线态氧检测试剂盒(SOSG) (Singlet Oxygen Assay Kit with SOSG), 简称SOSG Assay Kit, 是一种使用对单线态氧(Singlet oxygen)具有高度选择性的绿色荧光探针SOSG (Singlet Oxygen Sensor Green), 进行快速高灵敏检测细胞内单线态氧的试剂盒。本试剂盒适用于荧光显微镜、激光共聚焦显微镜、流式细胞仪、荧光酶标仪等荧光检测系统进行检测。

活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)是分子氧化还原过程中的一系列中间产物, 是一类化学性质活泼具有较高氧化活性的分子或离子的总称。单线态氧(Singlet oxygen, 1O_2)是活性氧的一种, 可通过细胞代谢、氧化还原反应、光敏化等途径产生, 能够破坏生物细胞成分, 如脂质、蛋白质以及核酸等, 在生物学、医学、材料和化学等领域得到了广泛的关注[1]。虽然单线态氧是一种强氧化试剂, 但细胞内存在的多种抗氧化酶和抗氧化剂能发挥相应的抗氧化机制而使其失活[2], 因此在正常细胞中, 自然产生的单线态氧以及其它ROS不会对细胞内的细胞器造成明显的损伤。

SOSG是对单线态氧高度选择性结合的探针, 对羟基自由基($\cdot OH$)、超氧阴离子自由基($\cdot O_2^-$)及一氧化氮(NO)无任何明显的反应。与单线态氧反应前, SOSG自身具有微弱的蓝色荧光, 激发峰在372nm和393nm, 发射峰在395nm和416nm; 与单线态氧反应后, 生成的SOSG内过氧化物(SOSG endoperoxide, SOSG-EP)发出类似于荧光素(Fluorescein)的绿色荧光, 最大激发光波长为504nm, 最大发射光波长为525nm。SOSG的化学结构及与单线态氧的反应原理参考图1 [3]。

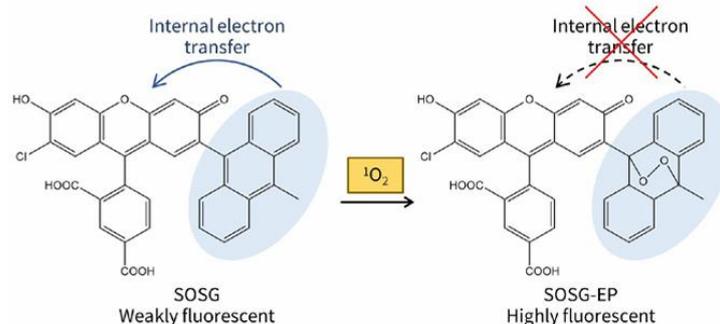


图1. 乐业单线态氧检测试剂盒(SOSG)中SOSG的化学结构及与单线态氧(1O_2)的反应原理图。SOSG在与单线态氧反应之前, 因为存在内部电子转移(Internal electron transfer)会导致荧光淬灭。当SOSG与单线态氧反应后, 形成SOSG endoperoxide (SOSG-EP), 内部电子转移被阻止, 此时能观察到明亮的绿色荧光。注: 此处结构式仅供参考。

本试剂盒组分齐全, 使用便捷。本试剂盒提供单线态氧阳性对照试剂SOup可短时诱导细胞单线态氧生成。同时, 本试剂盒提供Assay Buffer, 使用更便捷。本试剂盒也提供了Hoechst 33342染色液, 方便同时观察细胞核染色情况。使用本试剂盒检测RAW264.7细胞内单线态氧的效果参考图2和图3。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

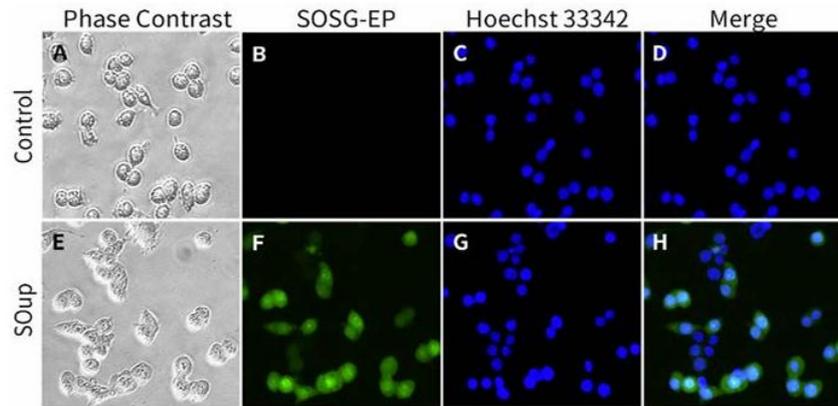


图2. 乐业单线态氧检测试剂盒(SOSG)检测RAW264.7 (小鼠单核巨噬细胞)细胞内单线态氧的效果图。正常的RAW264.7细胞中单线态氧含量很低, 细胞内无明显绿色荧光(图B、D); 使用单线态氧阳性对照试剂SOup处理细胞60分钟后, 细胞内绿色荧光显著增强(图F、H)。实际检测效果会因实验条件、检测仪器的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

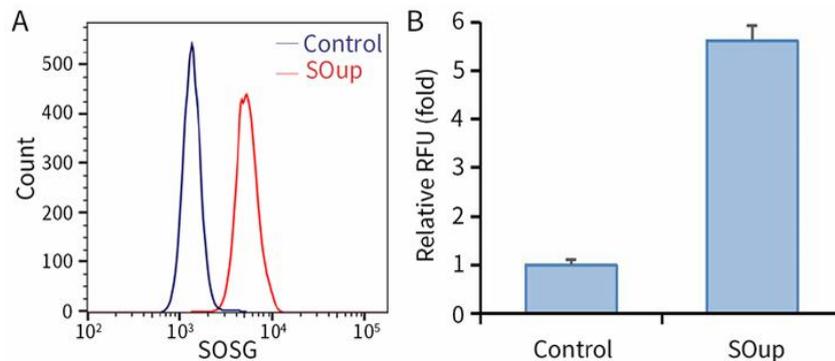


图3. 乐业单线态氧检测试剂盒(SOSG)检测RAW264.7 (小鼠单核巨噬细胞)细胞内单线态氧的效果图。正常的RAW264.7细胞中单线态氧含量很低; 使用单线态氧阳性对照试剂SOup处理细胞60分钟后, 经流式细胞仪(图A)及酶标仪(图B)检测荧光强度显著升高。实际检测效果会因实验条件、检测仪器的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

本试剂盒小包装, 6孔板每孔检测体系的体积为1ml时, 可以检测30次; 96孔板每孔检测体系的体积为100 μ l时, 可以检测300次。如果用于流式细胞仪, 每个样品检测体积为0.5ml时, 可以进行60次检测。

产品组成:

产品组成	30-300次	保存条件
SOSG	100 μ g	-20 $^{\circ}$ C
SOup (500 \times)	20 μ l	-20 $^{\circ}$ C, 避光
Hoechst 33342 (1000 \times)	35 μ l	-20 $^{\circ}$ C, 避光
Assay Buffer	60ml	-20 $^{\circ}$ C

使用说明:

1. SOSG储存液的配制。

取100 μ g本产品溶解于33 μ l甲醇中, 即得约5mM的SOSG储存液。

注1: 由于微量的SOSG可能会附着在离心管管壁或管盖内, 所以在打开管盖前, 建议在离心机中约8,000-12,000 \times g离心10-30秒, 使附着在管盖或管壁上的SOSG聚集于管底。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

注2: SOSG储存液适当分装后-80°C储存, 建议一个月内使用。

2. SOSG工作液的配制。

按照96孔板每孔100 μ l SOSG工作液(SOSG Working Solution)的用量, 按照下表配制适量的SOSG工作液, 并充分混匀。

Samples	1	10	100
SOSG (5mM)	0.1 μ l	1 μ l	10 μ l
Hoechst 33342 (1000 \times)	0.1 μ l	1 μ l	10 μ l
Assay Buffer	99.8 μ l	998 μ l	9.98ml
SOSG Working Solution	100 μ l	1ml	10ml

注1: 配制SOSG工作液时注意避光, 且须现配现用, 不能长期保存。

注2: SOSG最优先的推荐终浓度为5 μ M, 对大多数细胞都适用。但为了得到满意的结果, 对于不同类型的细胞请自行进行一定的摸索, SOSG的终浓度通常为2.5-10 μ M。

注3: Hoechst 33342染色为选做。为了方便观察每个细胞, 可以考虑使用Hoechst 33342进行细胞核染色。

注4: 本试剂盒配套提供的Assay Buffer可在一段时间内维持细胞的正常状态, 并给细胞提供一定的营养, 效果通常比PBS或HBSS更好。也可以用Assay Buffer外的其它合适的缓冲液, 如无血清培养液、HBSS或PBS稀释SOSG。

3. 阳性对照的设置。

将试剂盒中提供的单线态氧阳性对照试剂SOup (500 \times)按照1: 500的比例加入到细胞培养液中, 通常处理细胞60-120分钟即可, 具体处理时间可以根据细胞种类适当调整。随后按照下述各种检测方法的步骤加入SOSG工作液, 进行检测。

注1: 单线态氧阳性对照试剂可短时间内诱导细胞单线态氧生成, 终浓度通常为0.5-2 \times , 最优先的推荐终浓度为1 \times 。

注2: 仅在阳性对照孔内加入SOup作为阳性对照, 其余孔内不必加入SOup。

注3: SOup实测对于RAW264.7有良好效果, 但可能对某些细胞效果微弱或者完全没有效果。

4. 荧光显微镜检测。

a. 接种培养。将细胞接种于96孔板等多孔板、细胞培养皿中或者细胞爬片上, 按照实验设计使用阳性对照等对细胞进行适当处理。

b. 洗涤(选做)。对于贴壁细胞, 吸除培养液, 用PBS洗涤细胞1遍; 对于悬浮细胞, 250-1000 \times 室温离心5分钟, 吸除上清, 用PBS洗涤1遍。吸除培养液和PBS时最好使用真空泵。在能充分吸净残留液体的情况下, 可以不使用PBS洗涤。

c. 染色。加入适当体积的SOSG工作液。通常96孔板每孔加入100 μ l, 24孔板每孔加入250 μ l, 12孔板每孔加入500 μ l, 6孔板每孔加入1ml。37°C避光孵育15分钟。孵育时间可在10-30分钟之间进行调整。

注1: 如果是首次实验不能确定孵育时间, 建议先尝试37°C孵育15分钟, 观察荧光效果。如果正常细胞染色较深, 则适当缩短时间; 如果荧光强度太弱, 则适当延长时间。

注2: 孵育后也可用PBS或HBSS洗涤1-3次。

d. 检测。孵育结束后, 在荧光显微镜下观察染色效果(SOSG-EP为绿色荧光, Ex/Em=504/525nm)。

5. 流式细胞仪检测。

a. 接种培养。将细胞接种于6孔板或细胞培养皿中, 按实验设计使用阳性对照等对细胞进行适当处理。

b. 细胞准备。贴壁细胞胰酶消化后用培养液重悬, 并用PBS洗涤一次; 悬浮细胞250-1000 \times 室温离心5分钟, 吸除上清, 用PBS洗涤一次。每个样品推荐的细胞用量为100万个细胞。

c. 染色。对于上一步骤的100万个细胞的沉淀, 加入1ml SOSG工作液, 重悬为单细胞悬液。37°C避光孵育15分钟。孵育时间可在10-30分钟之间进行调整。

注1: 如果是首次实验不能确定孵育时间, 建议先尝试37°C孵育15分钟, 观察荧光效果。如果正常细胞染色较深, 则适当缩短时间; 如果荧光强度太弱, 则适当延长时间。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

注2: 孵育后也可用PBS或HBSS洗涤1-3次。

d. 检测。孵育完成后, 可以直接进行流式细胞仪检测, 也可以250-1000×g室温离心5分钟沉淀细胞, 吸净液体后每个样品加入0.5ml Assay Buffer重悬细胞后用流式细胞仪检测(SOSG-EP为绿色荧光, Ex/Em=504/525nm)。

注: 由于流式细胞仪比较灵敏, 使用的荧光探针浓度可能要比荧光显微镜检测时要低, 此时可根据细胞类型和试剂染色情况对SOSG稀释倍数进行适当调整。

6. 荧光酶标仪检测。

a. 接种培养。将细胞接种于96孔板黑色多孔板中, 如黑色透明底96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装), 每孔的细胞数需要控制在100-10,000个, 通常宜在2000-5000个范围内。按实验设计使用阳性对照等对细胞进行一定处理。

b. 洗涤(选做)。对于贴壁细胞, 吸除培养液, 用PBS洗涤细胞1遍; 对于悬浮细胞, 250-1000×g室温离心5分钟, 吸除上清, 用PBS洗涤1遍。酚红或血清对于本试剂盒的检测有一定的干扰, 吸除培养液和PBS时最好使用真空泵。在能充分吸净残留液体的情况下, 可以不使用PBS洗涤。

c. 染色。加入适当体积的SOSG工作液, 通常96孔板每孔加入100μl。37°C避光孵育15分钟。孵育时间可在10-30分钟之间进行调整。

注1: 如果是首次实验不能确定孵育时间, 建议先尝试37°C孵育15分钟, 观察荧光效果。如果正常细胞染色较深, 则适当缩短时间; 如果荧光强度太弱, 则适当延长时间。

注2: 孵育后也可用PBS或HBSS洗涤1-3次。

d. 检测。孵育结束后, 用荧光酶标仪检测(SOSG-EP为绿色荧光, Ex/Em=504/525nm)。通过对比对照组与处理组的RFU (Relative fluorescence values), 可以得出处理组的效果。

注意事项:

1. SOup (500×)和Hoechst 33342 (1000×)第一次使用时请适当分装后-20°C保存, 避免反复冻融。
2. Assay Buffer经过过滤除菌处理, 在使用时须注意避免微生物污染, 否则很可能严重影响染色效果。如果Assay Buffer发生浑浊 等明显的微生物污染, 就不能继续使用。
3. 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。
4. 荧光酶标仪检测时须使用适合荧光检测的黑板或白板, 推荐使用全黑96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)或黑色透明底96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件:

-20°C保存, 一年有效。其中SOSG、SOup (500×)和Hoechst 33342 (1000×)须避光保存。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com