

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：E-BC-F008

产品规格：96T

检测仪器：荧光酶标仪、流式细胞仪、荧光显微镜

Elabscience®线粒体超氧化物荧光法测试盒

Mitochondrial Superoxide Fluorometric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测活细胞线粒体中的超氧化物。

检测原理

本试剂盒提供的荧光探针特异性靶向活细胞中线粒体，被线粒体超氧化物氧化产生明亮的红色荧光，在 396 nm 处激发探针可以特异性检测超线粒体超氧化物，也可使用 510 nm 激发波长检测线粒体活性氧(ROS)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	20 mL×1 瓶	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	探针 (Probe)	0.08 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	1 板	
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：荧光酶标仪、流式细胞仪、荧光显微镜、37 °C 恒温箱

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25℃，试剂二可分装后-20℃避光保存，避免反复冻融。

② 测定缓冲液的配制：

按照双蒸水：试剂一=9:1的比例稀释得到测定缓冲液。现配现用，避光备用，-20℃避光一周内使用有效。

③ 工作液的配制：

使用测定缓冲液稀释试剂二，推荐稀释200-2000倍，现配现用，避光备用，一天内使用有效。

④ 工作液和测定缓冲液在不同培养器皿中的体积：

细胞种类	贴壁细胞				悬浮细胞
	6孔板	24孔板	96孔板	35 mm 培养皿	2 mL 离心管
每孔所需工作液或测定缓冲液体积	1.5 mL/孔	0.3 mL/孔	0.1 mL/孔	1.5 mL/孔	0.3 mL/管

操作步骤

检测仪器部分参数设置	
荧光酶标仪	检测超氧化物: Ex/Em = 396 nm/610 nm 检测 ROS: Ex/Em = 510 nm/610 nm
流式细胞仪	Violet 610 或 PE-Texas Red 通道检测
荧光显微镜	Texas Red、RFP

悬浮细胞

- ① 制备细胞悬液(以 2 mL 离心管为例), 设置对照管和测定管, 每管细胞个数最少为 2×10^5 个, 去除培养基, 用测定缓冲液清洗两次。
- ② 测定管: 去除上清后, 加入 0.2 mL 工作液重悬细胞。
对照管: 去除上清后, 加入 0.2 mL 测定缓冲液重悬细胞。
- ③ 37 °C 避光孵育 10-60 min, 请根据实际实验情况调整工作液浓度与孵育时间。
- ④ 可吸取 100 μ L 细胞悬液于 96 孔板中, 使用荧光酶标仪或流式细胞仪检测, 或用荧光显微镜进行观察拍照。

贴壁细胞

- ① 设置对照孔和测定孔, 每孔细胞个数最少为 1×10^5 个, 去除培养基, 用测定缓冲液清洗两次。
- ② 测定孔: 加入工作液。
对照孔: 加入测定缓冲液。
- ③ 37 °C 避光孵育 10-60 min, 请根据实际实验情况调整工作液浓度与孵育时间。
- ④ 使用荧光酶标仪或流式细胞仪检测, 或用荧光显微镜进行观察拍照。

附录1 关键数据

1.技术参数

批间差	6.2-11.7%		
-----	-----------	--	--

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

