

DHE 染色实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
冰冻切片机	赛默飞世尔科技有限公司	HM525NX
防脱载玻片	湖北百奥斯生物科技有限公司	BP0510
荧光显微镜	奥林巴斯有限公司	BX53
成像系统	3D HISTECH	Pannoramic SCAN II
移液枪	大龙兴创实验仪器(北京)股份有限公司	YE169AA0033229
组化笔	福州迈新生物技术开发有限公司	PEN-0002

2、主要试剂及货号

名称	厂家	货号
OCT 包埋剂	日本樱花	4583
TBS 缓冲盐粉	湖北百奥斯生物科技有限公司	BP0152
DHE 染液	SigmaAldrich	D7008-10
抗荧光淬灭封片剂	Southern Biotech	0100-01

二、实验步骤

- 1、将切好的组织冰冻切片放置于室温复温 20 分钟。
- 2、按 1:500 配制 DAPI 工作液，避光染核 3 分钟。
- 3、TBST 清洗切片，浸洗 3 次，每次 5 分钟。
- 4、将 DHE 原液用 TBST 按 1:400 比例配制成工作液。
- 5、每张切片滴加 50-100 μ l (视组织大小而定) DHE 工作液，于湿盒内室温避光条件下反应 1 小时左右。
- 6、TBST 清洗切片，浸洗 3 次，每次 5 分钟。
- 7、用抗荧光淬灭封片剂封片，4 $^{\circ}$ C 避光保存。

8、显微镜下镜检，图像采集分析。

三、结果判读

DHE 能够自由穿透细胞膜，进入细胞的 DHE 在 ROS 氧化下形成氧化乙啶，后者可以掺入到细胞核染色体的 DNA 中，形成红色的荧光。因此，细胞内红色荧光的强度与 ROS 的含量之间有一定的比例关系。

四、注意事项

- 1、DHE 在光照和空气中易被氧化，注意避光密封保存。
- 2、DHE 染色结果易淬灭，染色完成后应尽快镜检采图，以减少各种可能的误差。
- 3、DHE 染色必须使用未固定的新鲜组织冰冻切片或活细胞进行染色。
- 4、荧光探针标记后，一定要洗净残余的未进入细胞内的探针，否则会导致背景较高。