

冰冻切片 ROS 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
冰切机	沈阳德誉电子仪器有限公司	SYD-K2040
OCT 包埋剂	樱花	4583
载玻片	陕西依科生物技术服务有限公司	YK116
盖玻片	江苏世泰实验器材有限公司	10212432c
脱色摇床	北京市六一仪器厂	WD-9405A
涡旋混合器	天悦电子	TYXH-II
移液枪	Dragon	KE0003087/KA0056573
组化笔	福州迈新	PEN-0002
正置显微镜	日本尼康	ci-s
成像系统	日本尼康	Ds-Fi3
扫描仪（白光、荧光）	3DHISTEC	PannoramicMIDI

2. 主要实验试剂

试剂	厂家
固定液	陕西依科生物技术服务有限公司
PBS 缓冲液	陕西依科生物技术服务有限公司
ROS 染色液	碧云天 S0063
DAPI	MCE
抗荧光淬灭剂	博士德

二、ROS 染色实验原理及步骤

实验原理 二氢乙锭 (Dihydroethidium, DHE), 可自由透过活细胞进入细胞内, 并被细胞内的 ROS 氧化, 形成氧化乙锭; 氧化乙锭可掺入染色体 DNA 中, 产生红色荧光。根据活细胞中红色荧光的产生, 可以判断细胞 ROS 含量的多少和变化。

ROS 染色实验步骤:

1. **复温, 水洗:** 将切片从 -20°C 拿出来复温 30min, 蒸馏水洗两次, 每次 8min;
2. **固定:** 将切片至于4%的多聚甲醛固定15min, 用PBS洗3次, 每次5min;
3. **染 ROS:** 用组化笔画圈 (防止染液流出) 加 ROS 染色液 37 度 30min;

4. **洗脱:** 用 PBS 洗 3 遍, 每次 5min;
5. **染核:** DAPI 染核 15min;
6. **洗脱:** 用 PBS 洗 3 遍, 每次 5min;
7. **封片:** 用滤纸吸干周围水分, 抗荧光淬灭剂封片;
8. **镜检拍照:** 荧光显微镜下观察, 激发波长 535nm, 发红光。

三、**染色结果判读:** DAPI 染出来的细胞核在紫外的激发下为蓝色, 阳性表达为红色。

。