

Hydroxyphenyl fluorescein (HPF)羟苯基荧光素

产品简介

氨基苯基荧光素 (APF) 和羟苯基荧光素 (HPF) 是由 T. Nagano 开发的两种活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 指示剂, 比 H₂DCFDA (DCFH-DA, DCFH) 具更优秀的特异性和稳定性。APF 和 HPF 显示有限的非选择性反应, 和相对较高的光诱导氧化抗性。APF 和 HPF 具细胞膜渗透性, 本身无荧光, 直到与羟基自由基或过氧亚硝基阴离子反应, 还能与次氯酸阴离子反应, 产生强绿色荧光 (Ex/Em, ~490/515nm), 可用荧光显微镜、高通量成像仪、荧光酶标板或流式细胞仪检测。

本品以粉末形式提供, 可直接溶于无水 DMSO 配制成 10mM 储存液, 常用工作浓度范围 1-10 μ M, 需根据自身的实验体系或参考文献进行优化。

产品组成

名称 编号	FS1338	Storage
Hydroxyphenyl fluorescein (HPF)羟苯基荧光素	1mg	-20°C干燥保存
使用说明书	1份	

基本特性

CAS: 359010-69-8

同义名: 3'-p-(hydroxyphenyl) fluorescein (HPF) 羟苯基荧光素

分子式: C₂₆H₁₆O₆

分子量: 424.41

纯度: 99%

Ex/Em: :492/515nm

溶解性: 溶于 DMSO (10mM)、DMF (5mM)

储存条件: -20°C干燥保存, 2年有效。

使用方法 (以下步骤仅做参考, 具体请根据实际情况或参考文献资料来调整。)

一、储存液制备

将低温保存的 1mg 粉末置于室温回温至少 20min, 之后加入 471 μ l 无水 DMF 配置成 5mM 储存液。充分溶解和混匀后, 按照单次用量分装, -20°C 避光干燥保存, 避免反复冻融。

【注】: HPF 能溶于 DMSO (10mM), 但有数据显示 DMSO 是羟基自由基的淬灭剂, 会干扰检测和降低灵敏度。因此, 建议用 DMF 作为溶剂。

二、溶液体系检测

正式实验前，取一管 HPF 储存液置于室温回温，使其充分融解。之后用合适的缓冲液（比如 HHBS 缓冲液，PBS 缓冲液）稀释到所需的工作浓度。建议起始浓度为 1-10 μM ，需根据自身的实验体系或参考文献进行优化。

三、细胞体系检测

以下实验步骤仅做参考，最佳的工作浓度、孵育时间和温度需根据实际情况进行调整。在加入 HPF 工作液之前按需处理细胞。

- 1) 根据具体用量，将 DMF 储存液用 HHBS 缓冲液或其他生理缓冲液稀释成 1-10 μM 工作液。
- 2) 根据实验设计处理细胞（比如，RASM 细胞用 50-100nM 血管紧张素 II 处理 3-5h）。
- 3) 取步骤 1) 准备的 1-10 μM 工作液加入细胞，37°C 孵育 20-60min。
- 4) 吸掉染色工作液，用 HHBS 或其他生理缓冲液替换。
- 5) 用合适的荧光仪器（Ex/Em=492/515nm）来检测。

【注 1】：BSA 和酚红会影响荧光，需谨慎使用。

【注 2】：HPF 和 APF 能用于溶液体系或胞内 ROS 检测。

注意事项

- (1) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。