

过氧化物和过氧化物酶荧光探针 Amplex Red

说明书修订日期：2018.09.05

Cat number: KGAF020

Store at -20°C for 12 months, 避光

For Research Use Only (科研专用)

一、产品描述

Amplex Red 是一种灵敏度高, 稳定性好的过氧化氢探针, 也是一种过氧化物酶的荧光底物。在 HRP 中, 的 Amplex Red 与过氧化氢以 1:1 进行反应, 产生具有高荧光的试卤灵。由于和很多不同的酶反应都会产生过氧化氢, 因此 Amplex Red 可以用来检测各种酶的活性。

二、产品包装

组份	Cat:KGAF020	储存条件
250× Amplex Red 储液	100 μ L/vial (共≈2.31mg)	-20°C 避光

说明: 本试剂盒针对 96 孔黑色微孔板可以足量做到 500Tests。

三、说明

化学名称: Amplex Red

分子式: C₁₄H₁₁NO₄

分子量: 257.25

CAS 号码: 119171-73-2

四、操作说明

A1. Amplex Red 针对过氧化物酶 (HRP) 工作液的应用:

1.1 250× Amplex Red 储液: 储液应当避免反复冻融, 避光保存。

1.2 制备 1×Amplex Red 过氧化物酶工作液: 建议在实验当天制备。室温解冻 Amplex Red 储液, 以含 200 μ M H₂O₂ 的 50mM 磷酸盐缓冲液, pH7.0 或者以您实验中所用的合适缓冲液将 250×储液稀释至 1×。

注意: 在有硫醇类物质如: DTT 或 β-巯基乙醇, 该类物质终浓度大于等于 10 μ M, 可以显著地降低试剂的动态范围。NADH 和谷胱甘肽 (还原型:GSH) 也可能影响到本试剂盒。

A2. 在上清液检测体系中操作本试剂盒:

2.1 加 50 μ L 以上步骤制备的 1×Amplex Red 过氧化物酶工作液至各个孔中 (包括: 酶标准孔、空白对照、样品测试孔), 确认每孔的总体积为 100 μ L。

注意: 对于 384 孔板来说, 每孔加入 25 μ L 的样品和 25 μ L 的 Amplex Red 酶工作液。

2.2 室温避光孵育 10-30 分钟。

2.3 检测荧光读数的增加 (Ex/Em=540/590nm)

2.4 以空白孔（仅有缓冲液）为荧光对照孔，以其他孔的读数减去空白对照值。

B1.准备 Amplex Red-双氧水（H₂O₂）工作液：

1.1 250×Amplex Red 储液：储液应当避免反复冻融，避光保存。

1.2 制备 1×Amplex Red 过氧化物酶工作液：建议在实验当天制备。室温解冻 Amplex Red 储液，以含 0.4units/mL HRP 的 50mM 磷酸盐缓冲液，pH7.0 或者以您实验中所用的合适缓冲液将 250×储液稀释至 1×。

注意：在有硫醇类物质如：DTT 或 β-巯基乙醇，该类物质终浓度大于等于 10 μM，可以显著地降低试剂的动态范围。NADH 和谷胱甘肽（还原型:GSH）也可能会影响到本试剂盒。

B2.在上清液检测体系中操作本试剂盒：

2.1 加 50 μL 以上步骤制备的 1×Amplex Red-H₂O₂ 工作液至各个孔中（包括：酶标准孔、空白对照、样品测试孔），确认每孔的总体积为 100 μL。

注意：对于 384 孔板来说，每孔加入 25 μL 的样品和 25 μL 的 Amplex Red-双氧水工作液。

2.2 室温避光孵育 10-30 分钟。

2.3 检测荧光读数的增加（Ex/Em=540/590nm）

2.4 以空白孔（仅有缓冲液）为荧光对照孔，以其他孔的读数减去空白对照值。

