冰冻切片 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
冰切机	赛默飞	NX50
OCT 包埋剂	陕西依科生物技术有限公司	YK1736
载玻片	陕西依科生物技术有限公司	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	品牌	货号
固定液	Y&KBIO	YK2200
PBS 缓冲液	Y&KBIO	BF002
DHE 染液	碧云天	S0063
DAPI	MCE	HY-D0814
抗荧光淬灭剂	Y&KBIO	YK2256

二、DHE 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℃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 DHE:**用组化笔画圈（防止染液流出）加 DHE 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。

。