

细胞爬片 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
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 染液	碧云天 S0063
DAPI	MCE
抗荧光淬灭剂	博士德

二、ROS 染色实验步骤

1. **水洗**：将处理过或者正常的细胞，使用 PBS 或其他缓冲液洗涤 1-2 次；
2. **染 ROS**：用组化笔画圈（防止染液流出）加 ROS 染色液，把爬片倒扣在载玻片上 37 度避光孵育 30min；
3. **洗脱**：用 PBS 洗 3 遍，每次 5min；
4. **染核**：DAPI 染核 15min；
5. **洗脱**：用 PBS 洗 3 遍，每次 5min；
6. **封片**：用滤纸吸干周围水分，抗荧光淬灭剂封片；
7. **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。