

## 10-Acetyl-3,7-dihydroxyphenoxazine (ADHP) 过氧化氢探针

### 产品信息:

**产品名称:** 10-Acetyl-3,7-dihydroxyphenoxazine (ADHP) 过氧化氢探针

### 规格:

目录号	产品名称	规格
X12294	过氧化氢探针(ADHP)	1mg
X12295	过氧化氢探针(ADHP)	5mg
X12296	过氧化氢探针(ADHP)	25mg

### 产品说明:

CAS 号	119171-73-2
分子式	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>4</sub>
分子量	257.25 g/mol
溶解性	溶于 DMSO、DMF
纯度	≥98%
Ex/Em	571/585nm(pH9.0, Resorufin)
摩尔消光系数	54000 (Resorufin)
保存	-20°C避光保存, 有效期 2 年
运输	冰袋运输

### 使用说明

#### 基本介绍:

10-Acetyl-3,7-dihydroxyphenoxazine (ADHP),中文名 10-乙酰基 3,7-羟基吩嗪,以商标名 Amplex®Red 在市场上销售。ADHP 是一种高度灵敏和稳定的过氧化物酶底物,选择性检测过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)。存在辣根过氧化物酶(HRP)的体系中,这一基本无色和非荧光的 ADHP 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 以 1:1 的化学定量比反应,生成强红色荧光的试卤灵(Resorufin) (Ex/Em= 571/585nm),可通过荧光光度计和酶标仪分析结果。许多酶反应能产生 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,因此,ADHP 能够用在偶联酶促反应中检测许多不同酶的生物活性。

#### 工作原理:

使用 ADHP 进行偶联酶促反应的工作原理。葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化生成过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>),通过辣根过氧化物酶(HRP)催化 ADHP 反应生成强荧光试卤灵(Resorufin)。

产品应用: 10-Acetyl-3,7-dihydroxyphenoxazine (ADHP)是目前为止非常灵敏和稳定的荧光探针用来检测 HRP 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。

- A) ADHP 普遍用来检测许多免疫实验中的 HRP;
- B) ADHP 用来检测微量的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>;

**ADHP 的应用实例:**

文献来源: Summers FA et al. Photooxidation of Amplex Red to resorufin: implications of exposing the Amplex Red assay to light. Methods Enzymol.2013;526:1-17.

**实验 1) Amplex Red Assay**

Reactions containing 50  $\mu$ M Amplex Red reagent, 0.1 U/mL HRP, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 0.5 U/mL catalase in 50 mM sodium phosphate buffer, pH 7.4, as indicated in the figure legends, were prepared in a darkroom under a red light. White ELISA plates containing the samples (100  $\mu$ L/well) in triplicate were either kept in the dark for 30 and 60 min or under ambient laboratory light. The fluorescence (excitation 535 nm, emission 595 nm) was measured on a GENios plate reader (Tecan, Durham, NC, USA).

**实验 2) Cell Culture Assay**

HaCaT keratinocytes were incubated with 50  $\mu$ M Amplex Red in PBS for 1 h at 37°C in the dark, then cells were irradiated using UVA (315- 400 nm) from four fluorescent PUVA lamps (Houvalite F20T12BL-HO; National Biological Co, Twinsburg, OH) for 15 minutes (3.75 J/cm<sup>2</sup>) and 30 minutes (7.5 J/cm<sup>2</sup>). Control cells were treated with the same conditions. After exposure, the fluorescence (excitation 535 nm, emission 595 nm) was recorded using a plate reader.

**注意事项:**

1) ADHP 的使用比较方便, 可配制 10-20mM DMSO 储存液, 之后用反应缓冲液比如 PBS, Tris buffer 稀释到 50-200 $\mu$ M 工作浓度用于检测。最佳的工作浓度需根据自身实验需求进行优化。

2) Amplex®Red 是 Life Technologies 公司的注册商标名。

3) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

**本产品仅供科研使用, 不可用于临床诊断应用或其他用途。**