羟自由基清除率检测试剂盒(Fenton 微板法)

产品简介：

在生命活动的代谢过程中不断产生各种自由基，其中羟自由基·OH 是体内最活跃的活性氧，可介导许多生理变化，羟自由基作用于体内蛋白质、核酸、脂类等生物分子，造成细胞结构和功能受损，进而导致体内代谢紊乱引起疾病，如引发不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应，并损伤膜结构和功能。羟自由基清除能力是样品抗氧化能力的重要指标之一，在抗氧化类保健品和药品研究中得到广泛应用。

羟自由基清除率检测试剂盒(Fenton 微板法)又称羟自由基清除能力检测试 剂盒或羟自由基检测试剂盒，其检测原理是 H_2O_2/Fe^{2+} 通过 Fenton反应产生羟自由基，并 将 Fe^{2+}氧化为 Fe^{3+}，导致红色的邻二氮菲-Fe^{2+}氧化为无色的邻二氮菲-Fe^{3+}，使邻二氮菲 -Fe^{2+}在 536nm处的最大吸收峰消失，可通过酶标仪测定 530~540nm 处吸光度的变化，据此可计算出羟自由基的含量变化，即可计算出样品的羟自由基清除率或清除能力，主要用于植物组织、血清、血浆等样本。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

编号 / 名称	GCTO1131 100T	Storage
试剂(A)：邻二氮菲溶液	15ml	4℃
试剂(B)：OH Assay Buffer	20ml	RT
试剂(C)：亚铁显色液	10ml	4℃
试剂(D)：氧化剂	10ml	4℃
使用说明书	1 份	

自备材料：

1、 蒸馏水

2、 实验材料： 植物组织(芹菜、绿豆、玉米等叶片)、血液、组织样本等

3、 研钵或匀浆器

4、 离心机、离心管或试管

5、 水浴锅

6、 酶标仪、96 孔板

操作步骤(仅供参考)：

1、 准备样品：

①植物样品： 取正常或逆境下的新鲜植物组织， 清洗干净， 擦干， 切碎， 迅速称取， 按 1~1.5g 样品： 4.5ml 蒸馏水的比例匀浆或研磨， 室温静置 4h， 3000g 离心 30min， 上清液即为羟自由基粗提液， 4℃保存备用(亦可参考相关资料提取方法提取)。

②血浆、血清和尿液样品： 血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于该试剂盒的测定， 4℃保存， 用于羟自由基的检测。

③高活性样品： 如果样品中含有较高浓度的羟自由基， 可用蒸馏水进行恰当的稀释。

2、 ·OH 加样： 按照下表设置空白管、未损伤管、损伤管、对照管、测定管， 溶液应按照顺序依次加入， 然后， 置各管于 37℃水浴锅保温 1h； 如果样品中的羟自由基(·OH)浓度过高， 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定， 样品的检测最好能设置平行管。

加入物(ml)	空白管	未损伤管	损伤管	对照管	测定管
邻二氮菲溶液	—	0.15	0.15	—	0.15
OH Assay Buffer	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
亚铁显色液	—	0.1	0.1	—	0.1
蒸馏水	0.8	0.55	0.45	0.7	0.35
待测样品	—	—	—	0.1	0.1
氧化剂	—	—	0.1	—	0.1

3、 ·OH 测定： 取 96 孔板， 将各管溶液依次吸取 300ul 加至 96 孔板中， 用酶标仪检测 530~540nm 处各孔吸光度值， 依次记为 A_0、A_1、A_2、A_3`、A_3。

计算：

组织样品·OH 清除率(%) =[(A_3- A_3`)-(A_2- A_0)]/[(A_1- A_0)-(A_2- A_0)]×100

=[(A_3- A_3`)-(A_2- A_0)]/(A_1-A_2) ×100

备注： A_0 =空白管的吸光度值

A_1 =未损伤管的吸光度值

A_2 =损伤管的吸光度值

A_3` =对照管的吸光度值

A_3 =测定管的吸光度值

注意事项：

1、 实验材料应尽量新鲜， 如取材后不能立即检测， 应存于 4℃。

2、 测定过程中的干扰因素较多， 容易对测定的准确性和灵敏度造成影响。

3、 水浴的温度和时间应一致。

4、 如果没有分光光度计， 也可以使用普通的酶标仪测定， 但应考虑酶标仪的最大检测体积。

5、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6 个月有效；4℃运输，4℃保存。