羟自由基清除率检测试剂盒(Fenton 比色法)

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 比色法)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，可通过分光光度计测定 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	GCTO1133 50T	Storage
试剂(A): 邻二氮菲溶液	30ml	4℃ 避光
试剂(B): ·OH Assay Buffer	40ml	RT
试剂(C): 亚铁显色液	20ml	4℃
试剂(D): 氧化剂	20ml	4℃
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、 实验材料：植物组织(芹菜、绿豆、玉米等叶片)、血液、组织样本、蒸馏水等

2、 电子天平、研钵或匀浆器、离心机、离心管或试管、水浴锅、分光光度计、比色杯

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(·OH)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(单位：ml)	空白管	未损伤管	损伤管	对照管	测定管
邻二氮菲溶液	—	0.6	0.6	—	0.6
OH Assay Buffer	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
亚铁显色液	—	0.4	0.4	—	0.4
蒸馏水	3.2	2.2	1.8	2.8	1.4
待测样品	—	—	—	0.4	0.4
氧化剂	—	—	0.4	—	0.4

3、·OH 测定：比色杯光径 1cm，蒸馏水调零，以分光光度计测定各管 530~540nm 处吸光度值，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、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

5、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6 个月有效；低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCNA0034	Tris-硼酸电泳缓冲液(5×TBE)