

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($\cdot\text{OH}$)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 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ 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

名称 \ 编号	ADS018T00	Storage
	100T	
试剂(A): 邻二氮菲溶液	15ml	4°C 避光
试剂(B): $\cdot\text{OH}$ Assay Buffer	20ml	RT
试剂(C): 亚铁显色液	10ml	4°C
试剂(D): 氧化剂	10ml	4°C
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、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°C 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°C 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°C 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	—	0.15	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 250ul 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 A₀、A₁、A₂、A_{3`}、A₃。

计算

$$\begin{aligned} \text{组织样品} \cdot \text{OH 清除率}(\%) &= [(A_3 - A_{3'}) - (A_2 - A_0)] / [(A_1 - A_0) - (A_2 - A_0)] \times 100 \\ &= [(A_3 - A_{3'}) - (A_2 - A_0)] / (A_1 - A_2) \times 100 \end{aligned}$$

备注：A₀=空白管的吸光度值

A₁=未损伤管的吸光度值

A₂=损伤管的吸光度值

A_{3`}=对照管的吸光度值

A₃=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°C。
- 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。