



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

羟自由基清除率检测试剂盒(Fenton 比色法)说明书

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。

源叶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 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ 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:

试剂(A): 邻二氮菲溶液, 30ml, 4℃;

试剂(B): $\cdot\text{OH}$ 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. 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. 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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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($\cdot\text{OH}$)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. $\cdot\text{OH}$ 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($\cdot\text{OH}$)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. $\cdot\text{OH}$ 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' 、 A_3 。

计算:

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

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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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 2-8℃。
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。

有效期:

6 个月有效；2-8℃避光保存。

