



羟自由基(OH·) 含量测定试剂盒

可见分光光度法

产品简介:

羟自由基(OH·) 是活性氧的一种。2-脱氧核糖在羟自由基(OH·) 存在下被氧化成丙二醛类似物, 接着与硫代巴比妥酸(TBA)缩合生成有色产物, 通过测定该有色产物在532nm 的最大吸收峰, 进而计算出羟自由基(OH·) 含量。

试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体24mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体10mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	粉体mg×2瓶	4℃保存	临用前每瓶依次加13mL蒸馏水和13mL乙酸混匀, 可超声至完全溶解, 溶解后4℃保存(若变粉色则弃掉)。

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)而、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

羟自由基(OH·) 含量的测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验 样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①组织样本: 称取约0.2g 组织(水分充足的样本可取0.5g), 加入1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心10min,取上清, 置冰上待测。

【注】:若增加样本量, 可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

②细菌/细胞样本:



先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞(冰浴，功率200W，超声3s，间隔10s，重复30次)；12000rpm，4℃，离心10min，取上清液测定。

【注】:若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液 (mL) 为500~1000:1的比例进行提取。

③液体样本：澄清的液体样本直接测定，若浑浊则离心后取上清液测定。

2、上机检测

①打开可见分光光度计预热30min,同时水浴锅或者金属浴加热到95℃。

②在EP管中依次加入：

试剂名称(μL)	测定管	对照管
上清液	100	100
试剂一	100	300
试剂二	200	
35℃避光孵育1小时		
试剂三	400	400
混匀后，在95℃水浴中保温10min,取出放冰上冷却，25℃,观察是否浑浊，若浑浊则12000rpm离心3min,取全部上清液至1mL玻璃比色皿(光径1cm)中，于532nm处读取吸光度A。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。		

【注】:若 ΔA 值低于0.005,可增加上清液体积V1(如增至200μL,则试剂一为0μL)或增加取样质量W (如增至0.3g),则改变后的W 和 V1 代入公式重新计算。

结果计算：

1、按样本鲜重计算：

$$\text{羟自由基(OH}\cdot\text{)含量(A*1000/g 鲜重)} = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \times 10^3 = 10 \times \Delta A \div W \times 10^3$$

2、按细菌/细胞计算：

$$\text{羟自由基 (OH}\cdot\text{) 含量(A*1000/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div (500 \times V1 \div V) \times 10^3 = 10 \times \Delta A \div 500 \times 10^3$$

3、按照液体体积计算：

$$\text{羟自由基 (OH}\cdot\text{)含量(A*1000/mL)} = \Delta A \div V1 \times 10^3 = 10 \times \Delta A \times 10^3$$



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

V--- 样本提取液的总体积, 1mL;

V1--- 加入反应体系样本体积, 0.1mL;

500---细胞数量, 万;

W---样本质量, g;

A---absorbance units。



源叶