



羟自由基(OH·)含量测定试剂盒

微板法

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110mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体24mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体12mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	粉体mg×3瓶	4℃保存	临用前每瓶依次加9mL蒸馏水和9mL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:

酶标仪、96孔板、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打开酶标仪预热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	60	60
试剂一	60	180
试剂二	120	
35℃避光孵育1小时		
试剂三	240	240
混匀，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200μL上清液至96孔板中，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120μL,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：

$$\text{羟自由基(OH}\cdot\text{)含量(A*1000/g 鲜重)} = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \times 10^3 = 16.7 \times \Delta A \div W \times 10^3$$

2、按细菌/细胞计算：

$$\text{羟自由基 (OH}\cdot\text{) 含量(A*1000/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div (500 \times V1 \div V) \times 10^3 = 16.7 \times \Delta A \div 500 \times 10^3$$

3、按照液体体积计算：

$$\text{羟自由基 (OH}\cdot\text{)含量(A*1000/mL)} = \Delta A \div V1 \times 10^3 = 16.7 \times \Delta A \times 10^3$$



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, 0.06mL;

500---细胞数量, 万;

W---样本质量, g;

A---absorbance units。

保存条件：2-8 °C, 3个月



源叶