

总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒 (FRAP微板法)

产品货号: BA1771

产品规格: 100T

实验原理:

活性氧(Reactive oxygen species, ROS)主要包括羟基自由基、超氧自由基和过氧化氢。在细胞或组织的正常生理代谢过程中会产生活性氧,同时一些环境因子例如紫外照射、环境污染等也可以诱导活性氧的产生。活性氧产生后,可以导致细胞内脂、蛋白和DNA等的氧化损伤,诱发氧化应激(Oxidative stress),继而导致各种肿瘤、动脉粥样硬化、风湿性关节炎、糖尿病、肝损伤、以及中枢神经系统疾病等。

机体中存在多种抗氧化物,包括抗氧化大分子、抗氧化小分子和酶等,可以清除体内产生的各种活性氧,以阻止活性氧诱导的氧化应激(oxidative stress)的产生。一个体系内的各种抗氧化大分子、抗氧化小分子和酶的总的水平即体现了该体系内的总抗氧化能力。因此测定血浆、血清、尿液、唾液等各种体液,细胞或组织等裂解液中的总抗氧化能力具有非常重要的生物学意义。

总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(FRAP微板法),即Total Antioxidant Capacity Assay Kit with FRAP method,简称T-AOC Assay Kit,是一种采用铁离子还原能力(Ferric Reducing Ability of Plasma,FRAP)来测定样品抗氧化活性的方法,其原理是在酸性条件下,样品中的抗氧化物质还原 Fe^{3+} -TPTZ产生 Fe^{2+} -TPTZ,呈现出明显的蓝色(紫色),于593nm处有最大的光吸收。在 Fe^{3+} -TPTZ过量的情况下,测定蓝色物质的生成量即可获得待测样品的还原能力,即总抗氧化能力。由于反应在酸性条件下进行,可以抑制内源性的一些干扰因素,并且由于血浆等样品中的铁离子或亚铁离子的总浓度通常低于 $10\mu M$,因此血浆等样品中的铁离子或亚铁离子不会显著干扰FRAP法的检测反应。本方法可以对血浆、血清、尿液等各种体液,细胞或组织裂解液、植物或中草药抽提液、或各种抗氧化物溶液的总抗氧化能力进行检测。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

产品组成	100T	保存条件
试剂(A): 亚铁标准溶液(10mM)	1ml	4℃
试剂(B): FRAP Assay buffer	30ml	4℃
试剂(C): TPTZ溶液	3ml	4℃, 避光
试剂(D): 氯化铁溶液	3ml	4℃

自备材料:

1. 蒸馏水。
2. 实验材料: 植物组织(苹果、香蕉、梨、玉米等)、血液、组织样本等。
3. 研钵或匀浆器、水浴锅。
4. 离心机、离心管。
5. 酶标仪、96孔板。
6. 水浴锅或恒温箱。

操作步骤 (仅供参考):

1. 准备样品:

①植物样品: 取正常或特殊条件下的新鲜植物组织,洗净,擦干,切碎,迅速称取,按0.5g样品: 4.5ml蒸馏水的



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

比例匀浆或研磨，12000g离心10min，上清液定容至5ml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：取样后可直接用本试剂盒进行测定。

③组织样品：精确称取50mg组织，加入200ul预冷的PBS，超声或匀浆处理，充分破碎细胞使其抗氧化物释放出来，4℃12000r/min离心5min，取上清备用。

④细胞样品：收集约100万个细胞(无需准确计数，直接刮下，不用消化处理)，加入200ul预冷的PBS，超声或匀浆处理，充分破碎细胞使其抗氧化物释放出来，4℃12000r/min离心5min，取上清备用。

⑤抗氧化物质：用水配制成0.1~1.5mM，即可用于测定。

⑥组织或细胞样品需测定蛋白浓度。样品抗氧化能力较高，可用蒸馏水稀释后再次测定。

2. FRAP工作液制备：按FRAP Assay buffer: TPTZ溶液：氯化铁溶液=10:1:1的比例配制，一般一个检测各试剂的用量分别为220ul、22ul、22ul。该工作液宜2小时内用完。

3. Fe²⁺标准梯度的制备：用蒸馏水将亚铁标准溶液(10mM)稀释至0.05、0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.2、1.5mM，Fe²⁺标准梯度宜新鲜配置，一周内使用。

4. 加样：按照下表设置空白孔、标准孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入96孔板中，并注意避免产生气泡，小心混匀。然后，置各管于37℃水浴锅保温30min。如果样品的吸光度值过高，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(ul)	空白孔	标准孔	测定孔
蒸馏水	30	-	-
系列 Fe ²⁺ 标准(1~8号)	-	30	-
样品提取液	-	-	30
FRAP工作液	264	264	264

5. 测定：用酶标仪检测593nm处吸光度值，依次记为A空白、A标准、A测定。

计算：

以系列Fe²⁺标准(1~8号)，即亚铁离子浓度(mM)为横坐标，相应吸光度为纵坐标，作出标准曲线。本方法是以Fe²⁺浓度来表示总抗氧化能力，因此，可根据提取液的吸光度在标准曲线上查出相应的Fe²⁺浓度，即可知道该样品的抗氧化能力。计算方法举例如下，

植物样品的吸光度值和0.5mM的Fe²⁺的吸光度值相同，则该血浆(血清)样品的总抗氧化能力为0.5mM/(0.5g/5ml)=0.5mmol/100g；

血浆(血清)样品的吸光度值和0.7mM的Fe²⁺的吸光度值相同，则该血浆(血清)样品的总抗氧化能力为0.7mM；

细胞(组织)匀浆样品的吸光度值和0.3mM的Fe²⁺的吸光度值相同，该匀浆液蛋白浓度为0.2mg/ml，则该细胞(组织)样品的总抗氧化能力为0.3mM/0.2mg/ml=0.15mmol/g；

0.3mM的抗氧化物质，其吸光度值和0.6mM的Fe²⁺的吸光度值相同，则其相对总抗氧化能力为0.6mM/0.3mM=2。

注意事项：

1. 实验材料应尽量新鲜，样品提取的整个过程最好在4℃条件下进行。如取材后不能立即检测，也可以-80℃冻存后再进行测定(应在1个月内测定完毕)。
2. 亚铁标准溶液如变为黄色或棕黄色应弃用。
3. 测定593nm 如有困难，亦可在585~605nm范围内进行测定。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件： 6个月有效。4℃运输，4℃保存。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com