

## 羟自由基 (OH·) 含量测定试剂盒 (微板法)

产品货号: BA2754

产品规格: 96样

### 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。

### 产品组成:

试剂名称	96样	保存条件	备注
提取液	液体110mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体24mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	液体12mL×1支	2-8℃	
试剂三	粉体mg×3瓶	2-8℃	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)。

### 需自备的仪器和用品:

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<sup>4</sup>): 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	-



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

35°C避光孵育 1 小时		
试剂三	240	240
混匀，在 95°C水浴中保温 10min，取出放冰上冷却，25°C，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， $\Delta A = A$ 测定-A 对照。		

【注】若 $\Delta A$  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：

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

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。



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>