羟自由基清除能力检测试剂盒说明书

Hydroxyl Free radical-scavenging Activity Assay Kit

分光光度法

货号：AK318

规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
提取液 ES46	50mL×1 瓶	4℃保存；
AK318-A	8mL×1 瓶	4℃避光保存；
AK318-B	20mL×1 瓶	4℃保存；
AK318-C	5mL×1 瓶	4℃保存；
AK318-D	5mL×1 瓶	4℃保存；

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：羟自由基 (Hydroxyl Free radical) 是人体在新陈代谢过程中产生的对生物体毒性最强、危害最大的一种自由基。它可以使组织中的糖类、氨基酸、蛋白质、核酸等物质发生氧化，遭受氧化性损伤和破坏，导致细胞坏死或突变；另外衰老、肿瘤、水污染等均与羟自由基有关。继而又发现许多由它所致有害效应当加入羟自由基的清除剂后会明显降低，研究羟自由基的清除剂（如某些有机硒化物等）对研究某些病变原因、衰老机理的揭示具有重大意义，并已广泛应用于抗氧化类保健品和药品研究中。

原理：H_2O_2 / Fe^{2+} 通过 Fenton 反应产生羟自由基，将邻二氮菲- Fe^{2+}水溶液中 Fe^{2+}氧化为 Fe^{3+}，导致 536nm 吸光度下降，样品对 536nm 吸光度下降速率的抑制程度，反映了样品清除羟自由基的能力。

自备用品：

可见分光光度计、1ml 玻璃比色皿、低温离心机、水浴锅、可调式移液枪和蒸馏水。

粗酶液提取：

1. 组织样品制备

   组织：按照组织质量（g）：提取液 ES46 体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液 ES46）进行冰浴匀浆，然后 10000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
2. 血清、果汁等液体样品可直接测定。
3. 提取物（或者药物）可配制成一定浓度，如 5 mg/mL。

测定步骤

1. 分光光度计预热 30min，调节波长到 536nm，蒸馏水调零。
2. 在带盖 EP 管中依次加入

试剂名称	空白管 (ul)	对照管 (ul)	测定管 (ul)
AK318-A	150	150	150
AK318-B	400	400	400
AK318-C	100	100	100
立即混匀，防止局部颜色过浓			
样品			250
AK318-D		100	100
H_2O	350	250	

混匀、37℃，60min。10000rpm，离心 10min，之后蒸馏水调零，立即测定 A536。空白管、对照管和测定管的吸光值分别记为： A 空白、A 对照和 A 测定。

注意：对照管和空白管只测一次。

羟自由基清除活性计算公式：

羟自由基清除率 D% = (A 测定-A 对照)÷(A 空白-A 对照)×100%