组织活性氧(ROS)含量检测实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
立式冷藏柜	海尔	SC-332
电子天平	幸运	FA2204
S10 手持式高速匀浆机	上海菲桐仪器有限公司	S202404047
台式高速冷冻离心机	湖南恒诺仪器设备有限公司	2-16R
干式恒温器	申花	SH-G100
实验室超纯水机	砾鼎	MT-VF-20
涡旋混匀仪	JOANLAB	VM-500S
复合转子离心机	申花	SH-Mini7KS
多功能酶标仪	PerkinElmer	EnSight

2、主要实验耗材

耗材	品牌	货号
1.5mL 离心管	科兔生物	KTL-15-P
5ml 离心管	科兔生物	KTL-50-P
50ml 尖底离心管	科兔生物	KTL-500-P
200μL 吸头	科兔生物	KTX-H200-W
1000μL 吸头	科兔生物	KTX-H1000-W
1250μL 吸头	科兔生物	KTX-H1200-W
单道移液枪 2-20μL	科兔生物	KTY-20
单道移液枪 5-50μL	科兔生物	KTY-50
单道移液枪 10-100μL	科兔生物	KTY-100
单道移液枪 20-200μL	科兔生物	KTY-200
单道移液枪 100-1000μL	科兔生物	KTY-1000



二、实验步骤

试剂盒: 组织活性氧(ROS)定量检测试剂盒

货号: ml903192

1. 样本处理:

组织样本:取约 0.1g组织,加入 1mL提取液,进行冰浴匀浆。12000rpm,4℃离心 10min,取上清置于冰上待测。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. 实验流程

- (1) 酶标仪预热 30min,调节波长。
- (2) 所有试剂解冻至室温(25℃)。
- (3) 在黑色 96 孔板中依次加入:

试剂名称	测定管	空白管
样本	200	
提取液		200
试剂一	2	2

混匀,37℃避光孵育 30min 后于激发波长 488nm,发射波长 525nm 处读取荧光值 F。荧光强度=F 测定-F 空白

3. 结果计算

按照样本蛋白浓度计算:

活性氧强度定义: 每毫克组织蛋白每分钟产生的荧光强度定义为活性氧强度。

活性氧强度=荧光强度÷T÷Cpr×V

T---反应时间, 30 min

Cpr---上清液蛋白质浓度, mg/mL

V---加入提取液体积,1 mL

4. 结果交付

计算对应样本的 ROS 含量,结果由 EXCEL 形式发送。