

超氧阴离子清除能力检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0294	超氧阴离子清除能力检测试剂盒 (微量法)	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 150μL × 1 瓶	4℃, 避光
试剂二	粉剂 × 1 瓶: 临用前加 15mL 蒸馏水充分溶解。	4℃, 避光
试剂三	液体 5mL × 1 瓶	4℃
试剂四	液体 5mL × 1 瓶	4℃, 避光
试剂五	液体 5mL × 1 瓶	4℃, 避光

一、产品说明

超氧阴离子自由基作为生物体代谢过程中产生的一种自由基, 可攻击生物大分子, 如脂质、蛋白质、核酸和聚不饱和脂肪酸等, 使其交链或者断裂, 引起细胞结构和功能的破坏, 与机体衰老和病变有很密切的关系, 清除超氧阴离子自由基的研究已经得到了广泛的关注。

通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$), 与盐酸羟胺反应生成 NO_2^- , NO_2^- 与对氨基苯磺酸和 α -萘胺的作用生成红色的偶氮化合物, 在 530nm 处有特征吸收峰, 样品对超氧阴离子的清除能力与 530nm 的吸光值呈负相关。

二、自备材料

天平、研钵、低温离心机、酶标仪或分光光度计、微量玻璃比色皿或 96 孔板、恒温水浴锅。

三、样品准备

- 1、组织: 按照质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL 提取液) 加入提取液, 冰浴匀浆后于 4℃, 10000g 离心 10min, 取上清置于冰上待测。
- 2、细胞: 按照细胞数量 (10^4 个) : 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入1mL提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 4℃, 10000g 离心 10min, 取上清置于冰上待测。
- 3、培养液或其它液体: 直接检测。
- 4、剂药物可配制相同浓度, 比如 1mg/mL。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、酶标仪或分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 530nm, 蒸馏水调零。
- 2、操作表

试剂名称 (μL)	空白管	对照管	测定管
试剂一	1.2	1.2	1.2
试剂二		80	80
蒸馏水	100	20	
充分混匀, 25°C 反应 1min。			
样品			20
试剂三	40	40	40
充分混匀, 37°C 反应 30min。			
试剂四	40	40	40
试剂五	40	40	40
充分混匀, 37°C 显色 20min, 取200 μL 于96孔板, 以空白管调零, 在530nm处测定对照管和测定管的吸光值, 分别记为A对照管和A测定管。空白管只需测定一次。			

五、计算公式

超氧阴离子清除率 $I\% = (A_{\text{对照管}} - A_{\text{测定管}}) \div A_{\text{对照管}} \times 100\%$ 。

六、注意事项

- 1、空白管只需测定一次。
- 2、试剂一 4°C 可保存 2 个月, 配制好的试剂二 4°C 可保存一周, 建议实验前配制, 并尽快使用。
- 3、样品处理完后立即进行测定, 或者低温保存不超过 24 小时。