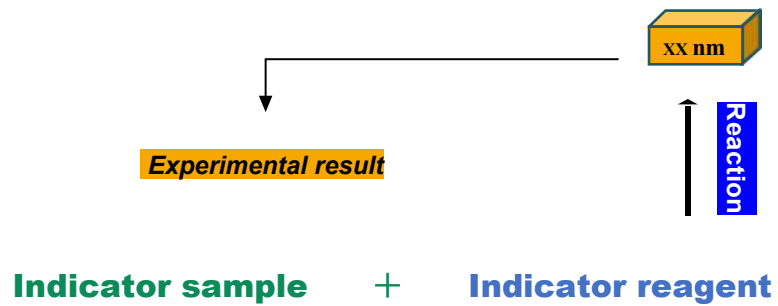


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

## 超氧阴离子清除能力检测试剂盒说明书

### 微量法

**正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定**

#### 测定意义

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。

#### 测定原理

通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子 ( $O_2^-$ )，与盐酸羟胺反应生成  $NO_2^-$ ， $NO_2^-$  与对氨基苯磺酸和  $\alpha$ -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。

#### 自备实验用品及仪器

天平、研钵、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、恒温水浴锅。

#### 试剂组成和配制

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 150ul×1 支	4°C避光保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C避光保存	临用前加15mL蒸馏水充分溶解
试剂三	液体 5mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	液体 5mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂五	液体 5mL×1 瓶	4°C避光保存	-

#### 样品处理

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°C，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°C，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. 粉剂药物可配制成相同浓度，比如1mg/mL。

## 测定操作

	空白管	对照管	测定管
试剂一 (μL)	1.2	1.2	1.2
试剂二 (μL)		80	80
H <sub>2</sub> O (μL)	100	20	
充分混匀, 25°C反应 1min			
样品 (μL)			20
试剂三 (μL)	40	40	40
充分混匀, 37°C反应 30min			
试剂四 (μL)	40	40	40
试剂五 (μL)	40	40	40
充分混匀, 37°C显色 20min, 取200ul于96孔板, 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。			

**注意:** 空白管只需测定一次。

### 计算公式

超氧阴离子清除率 1% = (A对照管 - A测定管) ÷ A对照管 × 100%

### 注意事项

1. 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。
2. 样品处理完后立即进行测定, 或者低温保存不超过24小时。