

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0637

Size: 50T/48S

超氧阴离子清除能力检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、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($O_2^{\cdot-}$)，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。

三、需自备的仪器和用品：

天平、研钵、低温离心机、可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、恒温水浴锅。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL × 1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	液体 300ul × 1 瓶	4℃ 避光保存	
试剂二	粉剂 × 1 瓶	4℃ 避光保存	临用前加 30mL 蒸馏水充分溶解
试剂三	液体 10mL × 1 瓶	4℃ 保存	
试剂四	液体 10mL × 1 瓶	4℃ 避光保存	
试剂五	液体 10mL × 1 瓶	4℃ 避光保存	

五、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℃，10000g 离心 10min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量 (10⁴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. 粉剂药物可配制成相同浓度，比如 1mg/mL。

六、测定操作

注意：空白管只需测定一次。

	空白管	对照管	测定管
试剂一 (μL)	6	6	6
试剂二 (μL)		400	400
H ₂ O (μL)	500	100	
充分混匀，25℃反应 1min			
样品 (μL)			100
试剂三 (μL)	200	200	200
充分混匀，37℃反应 30min			
试剂四 (μL)	200	200	200
试剂五 (μL)	200	200	200
充分混匀，37℃显色 20min，于1mL玻璃比色皿，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。			

七、计算公式：

$$\text{超氧阴离子清除率 } 1\% = (A_{\text{对照管}} - A_{\text{测定管}}) \div A_{\text{对照管}} \times 100\%$$

八、注意事项：

1. 试剂一4℃可保存2个月，配制好的试剂二4℃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。