

## 超氧阴离子清除能力试剂盒说明书

(货号: G0148F 分光法 48 样)

## 一、产品简介:

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,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。

在弱碱性条件下,邻苯三酚能发生自氧化反应产生超氧阴离子和有色中间产物,该中间产物在 320nm 处有特征吸收峰。当加入超氧阴离子清除剂时,它能迅速与超氧阴离子反应从而阻止中间产物的积累,使溶液在 320nm 处光吸收减弱。故可以通过测定 A320 值来评价清除剂对超氧阴离子的清除能力。

## 二、试剂盒组分与配制:

| 试剂名称 | 规格          | 保存要求  | 备注                                 |
|------|-------------|-------|------------------------------------|
| 试剂一  | 液体 65mL×1 瓶 | 4℃ 保存 |                                    |
| 试剂二  | 粉剂 mg×2 支   | 4℃ 保存 | 临用前甩几下,使粉剂落到底部,每支再加 1.1mL 蒸馏水充分溶解。 |
| 试剂三  | 液体 2mL×1 支  | 4℃ 保存 |                                    |

## 三、所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿(光径 1cm)、可调式移液器、天平、离心机。

## 四、超氧阴离子清除能力的测定:

## 1、样本制备:

- ① 组织样本:称取 0.1g 样本(若是干样可取 0.02-0.05g),加入 1mL 的 80%乙醇(自备)进行匀浆,匀浆后转入 2mL 离心管中;于 50℃,200-300W 条件下超声提取 30min(间隔 5min 振荡混匀一次)。若有损耗需用 80%乙醇定容至 1mL,12000rpm 室温离心 10min,取上清待测。
- ② 液体:直接检测;若浑浊,离心后取上清检测。

## 2、上机检测:

- ① 紫外分光光度计预热 30min,调波长至 320nm,试剂一和二于室温(25℃)预热 20min。
- ② 在 EP 管中依次加入下列试剂:

| 试剂名称(μL)               | 测定管 | 对照管 | 空白管(仅做一次) |
|------------------------|-----|-----|-----------|
| 试剂一                    | 630 | 630 | 630       |
| 室温(25℃)孵育 20min        |     |     |           |
| 样本                     | 30  | 30  |           |
| 蒸馏水                    |     | 40  | 30        |
| 试剂二                    | 40  |     | 40        |
| 室温(25℃)孵育 4min         |     |     |           |
| 试剂三                    | 20  | 20  | 20        |
| 混匀,于 320nm 处读取各管吸光值 A。 |     |     |           |

【注】:1.不同样本清除能力不一,可先选取 2 个样本做检测,若 A 空白大于 1.5 可缩短反应时间(如由 5min 减至 2min);

2.若 A 测定减 A 对照的差值大于空白管,需增加样本加样量(如由 30μL 增至 60μL,则试剂一相

应减少); 若 A 测定减 A 对照的差值小于 0.1, 需对样本用 80%乙醇稀释后再检测。

## 五、结果计算:

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