

超氧阴离子清除能力试剂盒说明书

(货号: G0129W 微板法 96 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。

外源体系产生的氧自由基与还原型物质作用生成紫红色的化合物,在 570nm 处有特征吸收峰,样品对超氧阴离子的清除能力与 570nm 的吸光值呈负相关。

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 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 A×5 支 液体 B×1 支	4℃保存	临用前甩几下,使粉剂落到底部,每支加 0.1mL 液体 B 振荡或超声溶解后,再加 3.9mL 蒸馏水混匀使用即加样表中的试剂二(务必加 0.1mL 液体 B 溶解后再加水),一周内用完。
试剂三	液体×2 支 EP 管	4℃保存	临用前离心或甩几下使试剂落入底部,每支再分别加 1.1mL 蒸馏水充分溶解, -20℃保存。
试剂四	粉剂×2 支	4℃保存	临用前离心或甩几下使试剂落入底部,每支再加 1.9mL 蒸馏水充分溶解,

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、研钵、低温离心机。

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 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 570nm,所有试剂解冻至室温(25℃)。
- ② 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管	空白管(仅做一次)
样本	10	10	
试剂一	75	95	85
试剂二	80	80	80
试剂三	20		20
试剂四	15	15	15
混匀,于 37℃反应 10min,于 570nm 处读取各管吸光值 A。			

【注】:不同样本清除能力不一,可先选取 2 个样本做检测,若 A 测定-A 对照值大于 A 空白;可增加样本量(如由 10μL 增至 40μL,则试剂一相应减少)。若 A 测定-A 对照接近零,需对样本进行稀释(用 80%乙醇稀释)后再检测。

五、结果计算：

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