北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

超氧阴离子清除能力试剂盒说明书

酶标法 48 样

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，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，所以清除超氧阴离子自由基的研究有着重要意义。

AP-TEMED 系统产生超氧阴离子，与盐酸羟胺反应生成 NO_2^-，NO_2^-与对氨基苯磺酸和α一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、自备实验用品及仪器

天平、研钵、低温离心机、酶标仪、96 孔板、恒温水浴锅。

三、试剂组成和配制

试剂名称	规格	保存温度	配置方法	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存		
试剂一	液体 1.5mL×1 支	4℃保存		
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加 6mL 蒸馏水充分溶解	4℃保存一周
试剂三	液体 7.5mL×1 瓶	4℃保存		
试剂四	液体 7.5mL×1 瓶	4℃保存		
试剂五	液体 7.5mL×1 瓶	4℃保存		

四、样本制备

建议正式实验前取 2 个样本做预测定，了解本批样本含量情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、组织：称取约 0.1g，加入 1mL 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：取 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。

五、测定操作

1、 酶标仪预热 30min，调节波长至 530nm 。

2、 在 96 孔板中依次加入下列试剂

	空白管	测定管	对照管
试剂一（μL）	10	10	10
试剂二（μL）	40	40	40
蒸馏水（μL）	25		
充分混匀，25℃反应 1min			
上清液（μL）		25	25
试剂三（μL）	50	50	
蒸馏水（μL）			50
充分混匀，37℃反应 30min			
试剂四（μL）	50	50	50
试剂五（μL）	50	50	50

充分混匀，37℃显色 20min，在 530nm 处测定各管的吸光值 A，计算△A=空白管-（A 测定-A 对照）

注意：空白管只做一次，每个样本需做一个自身对照。

六、计算公式

1、超氧阴离子清除率 I%=[A 空白-（A 测定-A 对照）]÷A 空白×100%

2、以标准曲线上获得的抗氧化剂维生素 C 的量表示：

标准曲线：$y = 8.4112x + 0.0507$，$R^2 = 0.9957$；x:维生素 C 浓度(mg/mL)，y:吸光值差值△A

单位定义:用从标准曲线上获得的抗氧化剂维生素 C 的量来表示样本的羟自由基清除能力。

超氧阴离子清除((mg VC/g 鲜重)=(△A-0.0507)÷8.4112×V 样÷(V 样÷V 样总×W)

=0.1189×(△A-0.0507)÷W