

超氧阴离子清除能力检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

货号：AC10305

规格：50T/48S

产品内容：

提取液：液体50mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体2mL×1瓶，4℃避光保存。

试剂二：粉剂×1瓶，4℃避光保存。临用前加8mL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。

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，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。

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 -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、1ml玻璃比色皿、恒温水浴锅。

操作步骤（仅供参考）：

一、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（ 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℃，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。

二、测定操作

	空白管	对照管	测定管
试剂一 (μL)	40	40	40
试剂二 (μL)		160	160
H2O (μL)	260	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。			

注意: 空白管只需测定一次。

三、计算公式

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

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。