

辅酶Q₁₀(CoQ₁₀)检测试剂盒(微板法)

产品简介

辅酶Q(Coenzyme Q, CoQ)是一种生物体内广泛存在的脂溶性醌类化合物, 故又称泛醌, 在体内呼吸链中质子移位及电子传递中起重要作用, 是呼吸链中重要的递氢体, 它是细胞呼吸和细胞代谢的激活剂, 也是重要的抗氧化剂和非特异性免疫增强剂。对多种酶有激活作用。不同生物体来源的辅酶Q其侧链异戊烯单位的数目不同, 人类和哺乳动物是10个异戊烯单位, 故称辅酶Q₁₀。辅酶Q₁₀是辅酶Q类的重要成员之一, 它们与线粒体内膜相结合, 广泛参与体内的生物代谢过程。

辅酶Q₁₀不仅能给心脏提供动力, 还具有卓越的抗氧化、清除自由基功能, 能预防血管壁脂质过氧化, 预防动脉粥样硬化, 并且无任何毒副作用。具体作用体现在以下四个方面:

- ①帮助保护心脏辅酶Q₁₀有助于为心肌提供充足氧气, 预防突发性心脏病, 尤其在心肌缺氧过程中辅酶Q₁₀发挥关键性改善作用。
- ②保护皮肤长期使用辅酶Q₁₀能够有效防止皮肤衰老, 减少脸部皱纹。
- ③抗疲劳辅酶Q₁₀使细胞保持良好健康的状态, 因而机体充满活力, 精力旺盛, 脑力充沛。它是细胞自身产生的天然抗氧化剂和细胞代谢启动剂, 具有保护和恢复生物膜结构的完整性、稳定膜电位作用, 是机体的非特异性免疫增强剂, 因此显示出极好抗疲劳作用。
- ④防癌抗癌研究表明, 辅酶Q₁₀有抗肿瘤作用, 临床对于晚期转移性癌症有一定疗效。

辅酶Q₁₀(CoQ₁₀)检测试剂盒(微板法)其检测原理是待测样品在碱性条件下, EC取代了CoQ₁₀上的甲氧基, 形成蓝色化合物, 通过酶标仪测定620nm处吸光度值, 根据标准曲线即可测出辅酶Q₁₀的含量。本产品可用于测定花生、牛肉、沙丁鱼、保健品等食品中的CoQ₁₀的含量。该试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称 \ 编号	ADS078TE0	Storage
	100T	
试剂(A): CoQ ₁₀ 标准(1mg/ml)	0.5ml	-20°C 避光
试剂(B): EC solution	5ml	RT 避光
试剂(C): EC buffer	25ml	RT
试剂(D): CoQ ₁₀ Assay buffer	5ml	4°C
使用说明书	1份	

自备材料

- 1、无水乙醇、蒸馏水、三氯甲烷或正己烷等提取试剂
- 2、电子天平、烧瓶、水浴锅、酶标仪、96孔板、超声波

操作步骤(仅供参考)

1、准备样品：

①新鲜动物心脏或肝脏样品：用醇碱皂化法、溶剂皂化法等提取(方法见附二)。

②动物血清样品：0.1ml血清加入0.9ml三氯甲烷，持续摇动30min以上，使CoQ₁₀充分提取出来。如果检测结果较低，可以降低三氯甲烷的加入量。

③细胞样品：取一定数量的细胞加入生理盐水或PBS，用匀浆器匀浆或超声破碎处理，高速离心，留取上清。后续参考血清样品操作。

④保健食品：参考GB/T22252-2008《保健食品中辅酶 Q₁₀ 的测定》中样本的提取方法。具体如下：根据试样中CoQ₁₀含量，称取1~5g均匀试样(精确至0.001g)，置于25ml棕色容量瓶中，加正己烷20ml，超声提取20min后，加正己烷至刻度，摇匀，量取1.0ml上述溶液于10ml棕色容量瓶中，用无水乙醇稀释至刻度，混匀，0.45μm滤膜过滤，滤液备用。

⑤酵母菌等发酵菌体样品：用醇碱皂化法提取，提取方法参考如下：

将湿菌体移入150ml圆底烧瓶，加入0.7g焦性没食子酸、2.5g氢氧化钾、19ml甲醇和7ml蒸馏水，混匀。90℃水浴锅中回流30min，迅速冷却至室温，倒入分液漏斗中，加入石油醚(正己烷、三氯甲烷或丙酮)等有机溶剂40ml，剧烈震荡5min，萃取CoQ₁₀，连续萃取2次，合并萃取液，用蒸馏水洗涤至中性，加入5g无水硫酸钠干燥。用旋转蒸发仪50℃浓缩至浓稠液，加入10ml无水乙醇，放入冰箱冷冻析出胆固醇等杂质，过滤，滤液定容至100ml待用。

- 2、CoQ₁₀ 加样：按照下表设置空白、标准和测定，溶液应按顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的CoQ₁₀浓度过高，可减少样品用量或用EC buffer稀释后再进行测定。

加入物(ml)	空白孔	标准孔	测定孔
EC buffer	200	175	175
CoQ ₁₀ 标准(1mg/ml)	—	25	—
待测样品(提取液)	—	—	25
EC solution	50	50	50
CoQ ₁₀ Assay buffer	50	50	50

3、CoQ10 测定：混匀，室温避光孵育 3~5min，酶标仪 620nm(600~640nm亦可)处测定标准管或测定管的吸光度。

计算

液体样品辅酶Q₁₀浓度： $CoQ_{10}(mg/ml) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 1$

液体样品辅酶Q₁₀含量： $CoQ_{10}(mg) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 1 \times V_T$

每100g固体样品辅酶Q₁₀含量： $CoQ_{10}(mg) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 1 \times V_T \times 100/m$

式中： $A_{\text{测定}}$ = 测定管的吸光度

$A_{\text{标准}}$ = 标准管的吸光度

0.5 = CoQ₁₀标准的浓度(mg/ml)

V_T = CoQ₁₀提取液的总体积(ml)

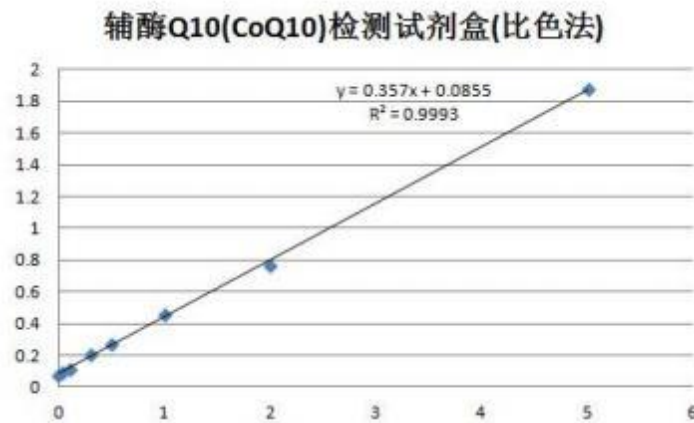
m = 样品的实际用量(g)

注意事项

- 1、CoQ10标准(1mg/ml)、CoQ10 Assay buffer 如果出现浑浊可超声波助溶后再进行标准浓度稀释。
- 2、待测样品中不能含有 CoQ10 抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 3、在皂化过程中，震荡不要剧烈，以免形成乳化层。
- 4、EC solution 有一定毒性，请小心操作。
- 5、检测标准品时，按步骤 3 表格混合后，2min 内即出现明显的蓝色变化并逐渐加深，20min 后蓝色开始变浅，30min 后逐渐呈黄绿色。630nm 检测数据表明，随着时间的延长，OD值在不断的下降，对应的颜色也已发生变化，特别是高浓度的标准品变化比较大。因此，应在出现最深的蓝色结果且稳定的时间段内尽快检测，而且建议每次同时检测标准品(0.5~1mg/ml)和样品。如有条件，最好用酶标仪检测，减少因检测时间导致的误差。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 7、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6个月。低温运输，按要求保存。

附一： 参考标准曲线范围：测定CoQ10标准 0.04、0.1、0.3、0.5、1、2、5mg/ml在630nm的吸光度，据此做出其标准曲线如下：



附二：CoQ₁₀的提取方法 (来源于网络，仅供参考)

方法一、醇碱皂化法

皂化液的制备取猪心残渣，压干称重，按干渣重加300g/L工业焦性没食子酸，搅匀，加醇-碱溶液(干渣重3~3.5倍量乙醇、320g/L氢氧化钠)，加热搅拌回流25~30min，迅速冷却至室温，得皂化液。

浓缩液的制备取皂化液，立即加入其体积1/10量的石油醚或120号汽油提取3~4次，搅拌，分层，得提取液。水洗至近中性，在40℃以下浓缩至原体积的1/10，冷却，-5℃以下静置过夜，过滤，得浓缩液。

辅酶Q₁₀精制品的制备将浓缩液过硅胶柱层析，先后用石油醚、10%乙醚-石油醚洗脱，收集洗脱液，回收溶剂，得黄色油状物。加热无水乙醇溶解，过滤，滤液静置，冷却结晶，真空干燥，得辅酶Q₁₀精制品。

方法二、醇醚混合溶剂提取法

辅酶Q₁₀粗制品的制备取猪心残渣，加1.5倍量的V_{乙醇}:V_{乙醚}=3:1混合溶剂，加热提取3~4次，每次15~20min，冷至室温，过滤，合并提取液。浓缩，加适量水，加石油醚提取，提取液浓缩，浓缩物为黄色油状物，即辅酶Q₁₀粗制品。

辅酶Q₁₀成品的制备取辅酶Q₁₀粗制品，加丙酮溶解，置-10℃以下析出杂质，过滤，滤液蒸去丙酮，加少量石油醚溶解，过硅胶柱层析分离，加无水乙醇结晶，得辅酶Q₁₀成品。