

超氧阴离子清除能力试剂盒说明书

(货号: ADS-W-KY019 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°C保存	
试剂二	粉剂 A×5 支 液体 B×1 支	4°C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	4°C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°C保存。
试剂四	粉剂 2 支	4°C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°C, 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 细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 的 80%乙醇 (自备), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- ③ 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°C)。
- 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°C 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 10 μ L 增至 40 μ L，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 $I\% = [1 - (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div A \text{ 空白}] \times 100\%$