辅酶 Q_{10}(CoQ_{10})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 Q_{10}。辅酶 Q_{10} 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 Q_{10} 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 Q_{10} 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 Q_{10} 发挥关键性改善作用。

②保护皮肤 长期使用辅酶 Q_{10} 能够有效防止皮肤衰老，减少脸部皱纹。

③抗疲劳 辅酶 Q_{10} 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 Q_{10} 有抗肿瘤作用，临床对于晚期转移性癌症有一定疗效。

Yuanye 辅酶 Q_{10}(CoQ_{10})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 CoQ_{10} 上的甲氰基，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 Q_{10} 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 CoQ_{10} 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:

编号 / 名称	R24194 100T	Storage
试剂(A): CoQ_{10} 标准(1mg/ml)	0.5ml	-20℃ 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℃
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 CoQ_{10} 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/T 22252-2008 《保健食品中辅酶 Q_{10} 的测定》中样本的提取方法。具体如下:根据试样中 CoQ_{10} 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 CoQ_{10},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、CoQ_{10} 加样:按照下表设置空白管、标准管和测定管,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 CoQ_{10} 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(μl)	空白孔	标准孔	待测孔
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、CoQ_{10} 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 Q_{10} 浓度:$CoQ_{10}(mg/ml)=A_{测定}/A_{标准}\times 1$

液体样品辅酶 Q_{10} 含量：$CoQ_{10}(mg)= A_{测定}/A_{标准}\times1\times V_T$

每 100g 固体样品辅酶 Q_{10} 含量：$CoQ_{10}(mg)= A_{测定}/A_{标准}\times1\times V_T\times100/m$

式中：$A_{测定}$=测定管的吸光度

$A_{标准}$=标准管的吸光度

1= CoQ_{10} 标准的浓度(mg/ml)

V_T=CoQ_{10} 提取液的总体积(ml)

m=样品的实际用量(g)

注意事项：

1、 CoQ_{10} 标准(1mg/ml)、CoQ_{10} 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 CoQ_{10} 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。

有效期： 6 个月有效。低温运输，按要求保存。

附一：CoQ_{10} 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 Q_{10} 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 Q_{10} 精制品。

方法二、醇醚混合溶剂提取法

辅酶 Q_{10} 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 Q_{10} 粗制品。

辅酶 Q_{10} 成品的制备　取辅酶 Q_{10} 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 Q_{10} 成品。