



超氧阴离子自由基清除能力试剂盒

可见分光光度法

货号: R43826-48S

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。

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55mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体20mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	液体×2支	4℃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℃保存。
试剂四	粉剂mg×1瓶	4℃保存	临用前离心或甩几下使试剂落入底部,再加7 mL蒸馏水充分溶解

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、可调式移液器、天平、研钵、低温离心机。

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℃,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℃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可见分光光度计预热30min 并调至570nm, 蒸馏水调零, 所有试剂至室温(25℃)。

②在1mL玻璃比色皿(光径1cm)中依次加入下列试剂:

试剂名称(μL)	测定管	对照管	空白管(仅做一次)
样本	40	40	
试剂一	500	540	540
试剂二	160	160	160
试剂三	40		40
试剂四	60	60	60
混匀, 于37℃反应10min,于570nm处读取各管吸光值A。			

【注】:1.不同样本清除能力不一, 可先选取2个样本做检测, 若A测定或A对照值大于A空白; 可增加样本量(如由40μL 增至80μL, 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, 浓缩或稀释的倍数D 带入公式计算。

2.测定前可将试剂一、三和四按照500μL:40μL:60μL 比例混成一个混合液(需依据当次检测的 样本数量混合对应的试剂量),每孔务必最后一步加600 μL 该混合液。

结果计算:

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