



超氧阴离子自由基清除能力试剂盒(邻苯三酚法)

紫外分光光度法

货号: R43827-48S

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。

在弱碱性条件下,邻苯三酚能发生自氧化反应产生超氧阴离子和有色中间产物,该中间产物在320nm处有特征吸收峰。当加入超氧阴离子清除剂时,它能迅速与超氧阴离子反应从而阻止中间产物的积累,使溶液在320nm处光吸收减弱。故可以通过测定A320值来评价清除剂对超氧阴离子的清除能力。

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65mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂mg×2支	4℃保存	临用前甩几下,使粉剂落到底部,每支再加1.1mL蒸馏水充分溶解
试剂三	液体2mL×1支	4℃保存	

所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL石英比色皿(光径1cm)、可调式移液器、天平、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1mL80%乙醇(自备)提取液,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 室温离心10min,取上清测定。

【注】:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液 (mL) 为500~1000:1的比例进行提取。

③液体:直接检测;若浑浊,离心后取上清检测。

2、上机检测:

①紫外分光光度计预热30min,调波长至320nm,试剂一和二于室温(25℃)预热20min。

②在EP管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)
试剂一	630	630	630
室温(25℃)孵育20min			
样本	30	30	
蒸馏水		40	30
试剂二	40		40
室温(25℃)孵育4min			
试剂三	20	20	20
混匀,于320nm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空白大于1.5可缩短反应时间(如由5min减至2min);

2.若A测定减A对照的差值大于空白管,需增加样本加样量(如由30μL增至60μL,则试剂一相应减少);若A测定减A对照的差值小于0.1,需对样本用80%乙醇稀释后再检测。

结果计算:

超氧阴离子清除率 I%=[1-(A测定-A对照)÷A空白]×100%