上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：400-666-5481　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：3008007435@qq.com

超氧阴离子自由基清除能力试剂盒

微板法

货号：R45145-96S

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20mL×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×2支	4℃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

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。

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 1 0min, 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℃)。

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℃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-A对照值大于A 空白；可增加样本量(如由10μL 增至40μL, 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75μL:20μL:15μL 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110 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

保质期：6个月