

## 超氧阴离子清除能力试剂盒说明书

(货号: G0129W 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	液体 20mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 $\mu$ L×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( $\mu$ L)	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】:** 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 10 $\mu$ L 增至 40 $\mu$ 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,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 75 $\mu$ L:20 $\mu$ L:15 $\mu$ L 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 $\mu$ L 该混合液。

## 五、结果计算：

超氧阴离子清除率  $I\% = [1 - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div A_{\text{空白}}] \times 100\% \times D$

