超氧阴离子清除能力试剂盒说明书

微量法 100T/96S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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，如脂质、蛋白质、核酸和聚不饱和脂肪酸等，使其交链或者断裂，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。

测定原理：

AP-TEMED 系统产生超氧阴离子，与盐酸羟胺反应生成 NO_2^-，NO_2^- 与对氨基苯磺酸和α－萘胺的作用生成红色的偶氮化合物，在 530nm 处有特征吸收峰，样品对超氧阴离子的清除能力与 530nm 的吸光值呈负相关。

组成：

产品名称	AO016-100T/96S	Storage
提取液：液体	100ml	4℃
试剂一：液体	1.5ml	4℃避光
试剂二：粉剂	1 瓶	4℃避光
试剂三：液体	7.5ml	4℃
试剂四：液体	7.5ml	4℃避光
试剂五：液体	7.5ml	4℃避光
说明书	一份	

自备仪器和用品：

天平、研钵、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、恒温水浴锅。

样品处理：

1. 组织：按照质量（g）：提取液体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g，加入 1ml 提取液）加入提取液，冰浴匀浆后于 4℃，10000g 离心 10min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10^4 个）：提取液体积（ml）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1ml 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 4℃，10000g 离心 10min，取上清置于冰上待测。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利

3. 培养液或其它液体：直接检测。

粉剂药物可配制成相同浓度，比如 1mg/ml

测定操作表：

	对照管	测定管
试剂一（μl）	10	10
试剂二（μl）	40	40
H_2O（μl）	25	
充分混匀，25℃反应 1min		
样品（μl）		25
试剂三（μl）	50	50
充分混匀，37℃反应 30min		
试剂四（μl）	50	50
试剂五（μl）	50	50
充分混匀，37℃显色 20min，于微量石英比色皿/96 孔板，在 530nm 处测定对照管和测定管的吸光值，分别记为 A 对照管和 A 测定管。		

注意：对照管只需测定一次。

计算公式:

超氧阴离子清除率 I%=$\frac{\text{A对照管 - A测定管}}{\text{A对照管}}\times 100\%$

注意事项：

1. 试剂一 4℃可保存 2 个月，配制好的试剂二 4℃可保存一周，建议实验前配制，并尽快使用。
2. 样品处理完后立即进行测定，或者低温保存不超过 24 小时。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利