

## 超氧阴离子清除能力试剂盒说明书

(分光法 48 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。

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。

## 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 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 |                                    |

## 三、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。

## 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℃，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 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。

## 五、结果计算:

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