

## 超氧阴离子自由基检测试剂盒(磺胺比色法)

产品货号: BA1541

产品规格: 50T

### 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,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。生物体内的分子氧可以经过单电子还原转变为超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>),超氧阴离子自由基既可以直接作用于蛋白质和核酸等大分子,也可以衍生为羟自由基、单线态氧、过氧化氢及脂质过氧化物自由基等对细胞结构和功能具有破坏作用的活性氧。

超氧阴离子自由基检测试剂盒(磺胺比色法)又称超氧阴离子清除能力检测试剂盒,其检测原理是利用羟胺氧化的方法可以检测生物体系中超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>),即超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)与羟胺反应生成NO<sub>2</sub><sup>-</sup>,NO<sub>2</sub><sup>-</sup>在氨基苯磺酸和萘胺作用下反应生成粉红色的偶氮物质对-苯磺酸-萘胺,以分光光度计测定530nm处吸光度,在一定范围内颜色深浅与超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)成正比,根据NO<sub>2</sub><sup>-</sup>反应的标准曲线将A<sub>530</sub>换算成NO<sub>2</sub><sup>-</sup>浓度,再依据上述关系式即可计算出O<sub>2</sub><sup>-</sup>浓度,该试剂盒主要用于测定植物组织中的超氧阴离子自由基含量或超氧阴离子清除能力。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

产品组成	50T	保存温度
试剂(A): NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 标准(1mM)	1ml	室温
试剂(B): O <sub>2</sub> <sup>-</sup> Lysis buffer	125ml	室温
试剂(C): 羟胺溶液	30ml	室温
试剂(D): 氨基苯磺酸显色液	30ml	4℃, 避光
试剂(E): 萘胺显色液	30ml	4℃, 避光

### 自备材料:

- 1、蒸馏水。
- 2、实验材料: 植物组织(大豆、绿豆、玉米等叶片)、血液、组织样本等。
- 3、研钵或匀浆器。
- 4、离心管或试管。
- 5、低温离心机。
- 6、恒温箱或水浴锅。
- 7、比色杯。
- 8、分光光度计。

### 操作步骤: (仅供参考)

#### 1、准备样品:

①植物样品: 取正常或逆境下的新鲜植物组织,清洗干净,擦干,切碎,迅速称取1~1.5g,加入2ml预冷的O<sub>2</sub><sup>-</sup> Lysis buffer后冰浴条件下匀浆或研磨,4℃ 10000g离心10min,上清液即为超氧阴离子自由基提取液,4℃保存备用。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

②血浆、血清和尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以用于本试剂盒的测定，4℃保存，用于超氧阴离子自由基的检测。

③高活性样品：如果样品中含有较高浓度的超氧阴离子自由基，可以使用 O<sub>2</sub><sup>-</sup> Lysis buffer 进行恰当的稀释。

2、配制系列 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>标准溶液：取出 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>标准(1mM)恢复至室温后，NO<sub>2</sub><sup>-</sup>标准(1mM)按下表继续稀释：

加入物(ml)	1	2	3	4	5	6
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 标准(1mM)	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06
蒸馏水	0.99	0.98	0.97	0.96	0.95	0.94
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 含量(μM)	10	20	30	40	50	60

3、O<sub>2</sub><sup>-</sup>加样：按照下表设置空白管、标准管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的超氧阴离子自由基浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行管。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	1	—	—
系列 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 标准(1~6 号)	—	1	—
待测样品	—	—	0.25
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> Lysis buffer	—	—	0.25
羟胺溶液	—	—	0.5
混匀，25℃水浴孵育 20min。			
氨基苯磺酸显色液	0.5	0.5	0.5
萘胺显色液	0.5	0.5	0.5
混匀，30℃水浴孵育 30min。			

4、O<sub>2</sub><sup>-</sup>测定：以空白调零，比色杯光径 1cm，分光光度计测定标准管、测定管 530nm 处吸光度(即为 A 标准、A 测定)。

#### 计算：

以系列 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>标准(1~6 号)含量(μM)为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，制作标准曲线，根据测定管的吸光度进而计算 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>含量。根据如下公式计算具体样品中超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)的含量：

植物组织样品 O<sub>2</sub><sup>-</sup>(μM/g)=2×n×VT/(W×VS)

式中：2=NO<sub>2</sub><sup>-</sup>与 O<sub>2</sub><sup>-</sup>间的化学计量数；

n=从标准曲线上查得的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>含量(μM) VT=超氧阴离子自由基提取液总体积(ml) W=样品鲜重(g) VS=测定时加入提取液体积(ml)

血清、尿液等样品 O<sub>2</sub><sup>-</sup>(μM/ml)=2×n×N/V<sub>S</sub>

式中：2=NO<sub>2</sub><sup>-</sup>与 O<sub>2</sub><sup>-</sup>间的化学计量数

n=从标准曲线上查得的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>含量(μM) N=稀释倍数 VS=测定时加入提取液体积(ml)

#### 注意事项：

- 1、实验材料应尽量新鲜，如取材后不立即使用，应存于 4℃。
- 2、如果样品中含有较多的叶绿素，会干扰测定结果，可在加入羟胺溶液 25℃水浴孵育 20min 后用等体积乙醚萃取叶绿素，再行显色反应。
- 3、如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定，但应考虑酶标仪的最大检测体积。
- 4、所测样本的浓度过高，应用 O<sub>2</sub><sup>-</sup> Lysis buffer 稀释样品后重新测定。

有效期：6 个月有效。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com