

超氧阴离子(OFR)含量检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1072

产品规格：100管/96样

产品简介：

生物体内超氧阴离子等活性氧具有免疫和信号传导的作用，但积累过多时会对细胞膜及生物大分子产生破坏作用，导致机体细胞和组织代谢异常，从而引起多种疾病。

超氧阴离子与盐酸羟胺反应生成 NO_2^- ， NO_2^- 在对氨基苯磺酰胺和萘乙二胺盐酸盐的作用下，生成红色的偶氮化合物，在530nm有特征吸收峰，根据A530值可以计算样品中 O_2^- 含量。

产品内容：

提取液：液体110mL×1 瓶，4℃保存。

试剂一：液体12mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：液体8mL×1 瓶，4℃避光保存。

试剂三：液体8mL×1 瓶，4℃避光保存。

试剂四：氯仿，自备。

亚硝酸钠标准品：液体0.5mL×1支，4℃保存。10 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 亚硝酸钠。

需自备的仪器和用品：

天平、水浴锅、离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、氯仿和蒸馏水。

操作步骤：

一、超氧阴离子提取

- 1、植物、动物组织：称取约0.1g样本，加入提取液1mL，充分研磨，12000rpm，4℃，离心20min，取20 μL 上清测定蛋白含量，其余上清作为待测样本。
- 2、血清或培养液：直接测定。

二、测定操作表

- 1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至530nm，蒸馏水调零。
- 2、标准溶液的制备

取适量亚硝酸钠标准液，首先8倍稀释至1.25 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ，然后进行倍比稀释至0.625、0.3125、0.15625、0.078、0.039、0.0195、0.009765、0.0049、0.00244、0.0012 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 梯度稀释的标准溶液，用0.625、0.3125、0.15625、0.078、0.039、0.0195、0.0049、0.0012 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 标准管做标准曲线。

3、操作表

| 试剂名称（ μL ） | 空白管 | 测定管 | 标准管 |
|-----------------------|-----|-----|-----|
| 标准溶液 | | | 40 |
| 样本 | | 40 | |
| 提取液 | 100 | 60 | 60 |
| 试剂一 | 80 | 80 | 80 |
| 充分混匀，37℃反应20min | | | |



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

| | | | |
|--|-----|-----|-----|
| 试剂二 | 60 | 60 | 60 |
| 试剂三 | 60 | 60 | 60 |
| 混匀，37℃水浴20min | | | |
| 试剂四 | 100 | 100 | 100 |
| 混匀，8000rpm，25℃，离心5min，小心吸取上层水相200μL，蒸馏水调零，微量玻璃比色皿/96孔板，测定530nm处吸光值，计算ΔA标准=A标准管-A空白管，ΔA样品=A测定管-A空白管。每次实验空白管仅需做一管。 | | | |

三、超氧阴离子含量计算公式

1、标准曲线的绘制

以ΔA标准为y轴，标准溶液浓度为x轴，绘制标准曲线 $y=kx+b$ 。

2、超氧阴离子含量的计算

将ΔA样品带入方程得到x值（μmol/mL）

(1) 按照样本鲜重计算

超氧阴离子含量（μmol/g 鲜重）= $2x \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}} \times W) = 2x \div W$ 。

超氧阴离子产生速率（μmol/ min/ g 鲜重）= $2x \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}} \times W) \div T = 0.1x \div W$ 。

(2) 按照蛋白质浓度计算

超氧阴离子含量（μmol/mg prot）= $2x \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times C_{\text{pr}}) = 2x \div C_{\text{pr}}$ 。

超氧阴离子产生速率（μmol/ min/mg prot）= $2x \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.1x \div C_{\text{pr}}$ 。

(3) 按照血清或培养液体积计算

超氧阴离子含量（μmol/mL）= $2x$

超氧阴离子产生速率（μmol/min/mL）= $2x \div T = 0.1x$ 。

V样本：参与反应样本体积，0.04mL；V提取：提取过程中加入的提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品鲜重，g；T：反应时间，20min。

注意事项：

- 1、OD值大于1.5，样品适当稀释再测定，注意计算公式里乘以稀释倍数。
- 2、样品制备好后，立刻进行测定，请勿将样品进行长时间的低温保存，以免影响测定结果。
- 3、试剂四有一定的毒性，请操作时做好防护措施。



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com