

## 超氧阴离子含量检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1071

产品规格：50管/48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  $\text{NO}_2^-$ ， $\text{NO}_2^-$  在对氨基苯磺酰胺和萘乙二胺盐酸盐的作用下，生成紫红色的偶氮化合物，在 530nm 有特征吸收峰，根据  $A_{530}$  值可以计算样本中  $\text{O}_2^-$  含量。

### 技术指标：

最低检出限：0.00124  $\mu\text{mol/mL}$

线性范围：0.0019-0.25 $\mu\text{mol/mL}$

**注意：**实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C
试剂一	液体 32mL×1 瓶	4°C
试剂二	液体 25mL×1 瓶	4°C
试剂三	液体 25mL×1 瓶	4°C
试剂四	液体 42mL×1 瓶（自备）	4°C
标准品	液体 1mL×1 支	4°C

溶液的配制：

1. 试剂四：自备氯仿；
2. 标准品：10 $\mu\text{mol/mL}$ 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、研钵/匀浆器、1mL 玻璃比色皿、氯仿和蒸馏水。

### 操作步骤（仅供参考）：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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°C，离心 20min，取 20 $\mu\text{L}$  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、测定步骤：

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 530nm，蒸馏水调零。
2. 标准溶液的制备

将标准溶液稀释为 0.125、0.0625、0.03125、0.015625、0.0078125、0.0039 $\mu\text{mol/mL}$  的标准溶液，用这些标准管做标准曲线。



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

### 3. 操作表

	空白管	测定管	标准管
标准溶液 (mL)			0.2
样本 (mL)		0.2	
提取液 (mL)	0.5	0.3	0.3
试剂一 (mL)	0.4	0.4	0.4
混匀, 37°C水浴20min			
试剂二 (mL)	0.3	0.3	0.3
试剂三 (mL)	0.3	0.3	0.3
混匀, 37°C水浴20min			
试剂四 (mL)	0.5	0.5	0.5
混匀, 8000rpm, 25°C, 离心5min, 小心吸取上层水相1mL, 测定A <sub>530</sub> 。计算ΔA标准=A标准管-A空白管, ΔA样本=A测定管-A空白管。(空白管只需做1-2次。)			

### 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样本带入方程得到x值 (μmol/mL)。

(1) 按照样本质量计算

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

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

(2) 按照蛋白质浓度计算

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

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

(3) 按照血清或培养液体积计算

$$\text{超氧阴离子含量 } (\mu\text{mol/mL}) = 2x$$

$$\text{超氧阴离子产生速率 } (\mu\text{mol/min/mL}) = 2x \div T = 0.1x$$

V样本: 参与反应样本体积, 0.2mL; 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: 样本质量, g; T: 反应时间, 20min。

### 注意事项:

1. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。
2. 样本制备好后, 立刻进行测定, 请勿将样本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