

超氧阴离子清除能力试剂盒说明书

(微板法 96 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 45mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二	粉剂 mg×2 支	4°C 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°C 保存	

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、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°C，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 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 320nm，试剂一和二需于室温(25°C)预热 20min。
- ② 在 96 孔板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	200	200	200
室温（25°C）孵育 20min			
样本	10	10	
蒸馏水		20	10
试剂二	20		20
室温（25°C）孵育 5min			
试剂三	10	10	10
混匀，3min 后于 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 10μL 增至 40μL，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 $I\% = [1 - (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div A \text{ 空白}] \times 100\%$