

## 超氧阴离子清除能力检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC1415

规格: 100T/96S

**产品内容:** 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

| 试剂名称 | 规格            | 保存条件   |
|------|---------------|--------|
| 提取液  | 液体 110 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一  | 液体 1.3mL×1 支  | 2-8℃保存 |
| 试剂二  | 粉剂×2 瓶        | 2-8℃保存 |
| 试剂三  | 液体 6 mL×1 瓶   | 2-8℃保存 |
| 试剂四  | 液体 6 mL×1 瓶   | 2-8℃保存 |
| 试剂五  | 液体 6 mL×1 瓶   | 2-8℃保存 |

溶液的配制:

- 1、试剂二: 临用前每瓶加 5.34mL 蒸馏水充分溶解。2-8℃保存 4 周。

### 产品说明:

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。

AP-TEMED 系统产生超氧阴离子, 与盐酸羟胺反应生成  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  与对氨基苯磺酰胺和  $\alpha$ -萘胺的作用生成红色的偶氮化合物, 在 530nm 处有特征吸收峰, 样本对超氧阴离子的清除能力与 530nm 的吸光值呈负相关。

**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。

### 需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、恒温培养箱/水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪, 冰和蒸馏水。

### 操作步骤:

#### 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、组织样本: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 进行冰浴匀浆, 然后 10000 g, 4℃, 离心 10 min, 取上清, 置于冰上待测。
- 2、液体样本: 直接检测。若有浑浊则离心后取上清待测。
- 3、细菌/细胞样本: 收集细胞到离心管内, 弃上清, 按照每 500 万细菌/细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌/细胞 (功率 200w, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 然后 10000g, 4℃, 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

#### 二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长至 530 nm, 分光光度计蒸馏水调零。
- 2、操作表:





| 试剂名称 (μL)                                                                  | 空白管 | 测定管 |
|----------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 试剂一                                                                        | 10  | 10  |
| 试剂二                                                                        | 40  | 40  |
| 充分混匀, 25°C反应 1min                                                          |     |     |
| 提取液                                                                        | 25  | -   |
| 样本                                                                         | -   | 25  |
| 试剂三                                                                        | 50  | 50  |
| 充分混匀, 37°C反应 30min                                                         |     |     |
| 试剂四                                                                        | 50  | 50  |
| 试剂五                                                                        | 50  | 50  |
| 充分混匀, 37°C显色 20min, 在 530nm 处测定空白管和测定管的吸光值, 分别记为 A 空白和 A 测定。空白管只需测定 1-2 次。 |     |     |
| 注: 1. 若测定血清(浆)样本, 则空白管的提取液需要换为蒸馏水进行空白管测定。                                  |     |     |
| 2. 若不使用提取液提取样本, 则空白管的提取液需要换成样本所使用的溶剂进行空白管测定。                               |     |     |

### 三、超氧阴离子清除能力计算

超氧阴离子清除率 (%) = (A 空白 - A 测定) ÷ A 空白 × 100%

#### 注意事项:

1. 样本制备好之后, 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。

#### 实验实例:

1. 称取 0.1 g 黄杨叶片组织, 加入 1 mL 提取液, 冰浴匀浆, 10000 g, 4°C条件下离心 10 min; 取上清置于冰上待测。使用 96 孔板, 按照测定步骤操作, 计算 A 空白=0.762, A 测定=0.311, 按公式计算超氧阴离子清除率 = (0.762-0.311) ÷ 0.762 × 100% = 59.18%
2. 吸取 25μl 的羊血清, 使用 96 孔板, 按照测定步骤操作, 计算 A 空白=0.762, 按公式计算超氧阴离子清除率 = (0.762-0.342) ÷ 0.762 × 100% = 55.12%

#### 相关发表文献:

- [1] Shan X, Li J, Liu J, Feng B, Zhang T, Liu Q, Ma H, Wu H, Wu H. Targeting ferroptosis by poly(acrylic) acid coated Mn3O4 nanoparticles alleviates acute liver injury. Nat Commun. 2023 Nov 21;14(1):7598. doi: 10.1038/s41467-023-43308-w. PMID: 37990003; PMCID: PMC10663555.
- [2] Zhang B, Yuan Y, Xin J, Chen M, Wang Z, Li X, Xue T. Study of Water- and Organic-Soluble Extracts from Trichosanthes on Type 1 Diabetes Mellitus. J Diabetes Res. 2022 Feb 17;2022:3250016. doi: 10.1155/2022/3250016. PMID: 35224106; PMCID: PMC8872669.
- [3] Zhang X, Sun Y, Yang R, Liu B, Liu Y, Yang J, Liu W. An injectable mitochondria-targeted nanodrug loaded-hydrogel for restoring mitochondrial function and hierarchically attenuating oxidative stress to reduce myocardial ischemia-reperfusion injury. Biomaterials. 2022 Aug; 287: 121656. doi: 10.1016/j.biomaterials. 2022.121656. Epub 2022 Jun 28. PMID: 35792386.



- [4] Bi D, Li M, Yao L, Zhu N, Fang W, Guo W, Wu Y, Xu H, Hu Z, Xu X. Enhancement of the chemical stability of nanoemulsions loaded with curcumin by unsaturated mannuronate oligosaccharide. Food Chem. 2023 Jul 15;414:135670. doi: 10.1016/j.foodchem.2023.135670. Epub 2023 Feb 10. PMID: 36827777.
- [5] Bi D, Li M, Zhu N, Yao L, Fang W, Wu Y, Xu H, Hu Z, Xu X. Unsaturated guluronate oligosaccharide used as a stabilizer of oil-in-water nanoemulsions loaded with bioactive nutrients. Food Chem X. 2022 Oct 10;16:100469. doi: 10.1016/j.fochx.2022.100469. PMID: 36299863; PMCID: PMC9589015.

**相关系列产品:**

- BC1320/BC1325 羟自由基清除能力检测试剂盒  
BC4750/BC4755 DPPH 自由基清除能力检测试剂盒  
BC4770/BC4775 ABTS 自由基清除能力检测试剂盒  
BC1310/BC1315 总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒

