

超氧阴离子清除能力检测 试剂盒（羟胺法/微量法）

货号：PMK1957BKM
规格：48T/24S 96T/48S
检测方法：比色法
储存条件：-20℃避光保存 6 个月

💡 建议正式实验前，选取 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验，如果样本吸光值不在检测范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

一、产品简介

研究背景：生物体内超氧阴离子（OFR）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。超氧阴离子清除能力是样品抗氧化能力的重要指标之一。

检测原理：本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析各种生物样本的超氧阴离子清除能力，其原理是 AP-TEMED 系统产生超氧阴离子，与盐酸羟胺反应生成 NO_2^- ， NO_2^- 与格里斯试剂反应，格里斯分析的机理概括为重氮类之间的偶氮耦合，重氮类是由磺胺和 NO_2^- 和 N-(1-萘基)乙二胺二盐酸盐产生的，生成红色的偶氮化合物，在 530nm 处有特征吸收峰，在一定范围内吸光值的变化与超氧阴离子清除能力呈负相关，通过吸光值变化并通过测定参比波长 600nm 做双波长校正，扣除干扰即可表征样本的超氧阴离子清除能力。

📄 **检测意义：**抗氧化活性评价与质量控制、筛选天然抗氧化活性成分、氧化应激相关疾病机制研究

🔑 **适用样本：**动植物组织、细胞、细菌、培养上清、提取物或药物、果汁、饮料等液体样本

二、产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一（10×）	1mL	2mL	-20℃避光保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃避光保存
试剂三	5mL	10mL	4℃保存
试剂四	4mL	8mL	4℃避光保存
试剂五	4mL	8mL	4℃避光保存

三、需自备的仪器和用品

📖 酶标仪或可见分光光度计（能测 530nm 和 600nm 处的吸光度）及水浴锅、96 孔板或微量玻璃比色皿、可调式移液枪及枪头、低温离心机、制冰机、去离子水、匀浆器（如果是组织样本）

四、试剂准备

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：临用前配制；按吸取 0.1mL 试剂一（10×）加入 0.9mL 去离子水，充分混匀的比例配制，即稀释 10 倍。配制好的试剂当天使用。剩余试剂分装-20℃避光保存，避免反复冻融。

试剂二：使用前每瓶加 3.5mL 去离子水充分溶解，分装-20℃避光可保存一个月，避免反复冻融。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂五：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

五、样本制备

动物组织：称取 0.1g 组织，加 1mL 提取液进行冰浴匀浆。12,000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

植物组织：称取 0.1g 组织，加 1mL 提取液进行冰浴匀浆，然后冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次）。12,000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），12,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

培养上清、果汁、饮料、药物溶液等液体样本：直接检测，若有浑浊离心后取上清，根据预实验确定稀释倍数。

提取物或者药物：可用提取液配成一定浓度，如 0.5mg/mL。

注意：1. 推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 6 个月。

2. 如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

六、实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 530nm，可见分光光度计去离子水调零。

2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂	空白 (μL)	空白对照 (μL)	测定 (μL)	对照 (μL)
试剂一	10	10	10	10
试剂二	40	40	40	40
充分混匀，25℃反应 1 min				
提取液	25	25	0	0
样本	0	0	25	25
试剂三	65	0	65	0
去离子水	0	65	0	65
充分混匀，37℃反应 30 min				
试剂四	30	30	30	30
试剂五	30	30	30	30

混匀，37℃反应 20min，测定 530nm 和 600nm 吸光值，计算 $\Delta A = A_{532} - A_{600}$ ； $\Delta\Delta A_{测} = \Delta A_{测定} - \Delta A_{对照}$ 、 $\Delta\Delta A_{空} = \Delta A_{空白} - \Delta A_{空白对照}$ （空白和空白对照只需测定 1-2 次）

⚠ 注意：1. 为了比较不同样品超氧阴离子清除能力，对于同一批样品必须稀释倍数相同，提取物或者药物配制成同样浓度。

2. 实验之前建议选择 1-2 个预期差异大的样本做预实验，如果 $\Delta\Delta A_{测}$ 大于 $\Delta\Delta A_{空}$ 或 $\Delta A_{对照}$ 大于 $\Delta A_{测定}$ ，样本可用去离子水进一步稀释。

3. 若不用提取液提取样本，空白和空白对照的提取液需换成样本所使用的溶剂或去离子水。

七、结果计算

超氧阴离子清除率 (%) = $(\Delta\Delta A_{空} - \Delta\Delta A_{测}) \div \Delta\Delta A_{空} \times 100\%$

附录：常见问题与解决方案 (FAQ)

问题	解决措施
计算时如果选择合适的计算公式？	动物组织及细胞微生物等，可以用质量或者细胞数量计算，也可以建议测蛋白浓度
	植物可建议用质量计算，也可以建议测蛋白
	血液或是其他液态样品，可建议用体积计算
	如客户要购买蛋白含量测定试剂盒，除了说明书强调用考马斯亮蓝法的，通常建议 BCA 法。动植物组织因为蛋白含量高，在 10mg/ml 左右，如果用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度的话通常需要用 PBS 缓冲液等稀释液进行稀释。
测定时如何进行调零？	除说明书中提示用对照管或某种试剂调零外，都用纯水调零。
试剂盒中样本提取时需要 0.1g 组织，我的样品量不够怎么办？	通常可以按比例缩小，如说明书中是约 0.1g 组织加 1ml 提取液，可以等比例缩小，如 0.05g 组织加 0.5ml 提取液提取。后续操作不变。
	对于数量少的样品，一方面可以减少提取液体积，另一方面还可以延长反应时

⚠ 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。

2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。

3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。

4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。

5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

🔗 相关产品：

PMK1036BKM 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1052BKM 羟自由基清除能力检测试剂盒 (微量法)

PMK1929BKM DPPH 自由基清除能力检测试剂盒 (微量法)

PMK1930BKM ABTS 自由基清除能力检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解，请关注公众号：