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。

外源体系产生的氧自由基与还原型物质作用生成紫红色的化合物，在 570nm 处有特征吸收峰，样品对超氧阴离子的清除能力与 570nm 的吸光值呈负相关。

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 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体μL×2 支	4℃保存	临用前离心或甩几下使试剂落入底部，每支再分别加 1.1mL 蒸馏水充分溶解，-20℃保存。
试剂四	粉剂×2 支	4℃保存	临用前离心或甩几下使试剂落入底部，每支再加 1.9mL 蒸馏水充分溶解。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、研钵、低温离心机。

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℃，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 细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 的 80%乙醇（自备），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

③ 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 570nm，所有试剂解冻至室温（25℃）。

② 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管	空白管（仅做一次）
样本	10	10	
试剂一	75	95	85
试剂二	80	80	80
试剂三	20		20
试剂四	15	15	15
混匀，于 37℃反应 10min，于 570nm 处读取各管吸光值 A。			

【注】：不同样本清除能力不一，**可先选取** 2 个样本做检测，若 A 测定-A 对照值大于 A 空白；可增加样本量（如由 10μL 增至 40μL，则试剂一相应减少）。若 A 测定-A 对照接近零，需对样本进行稀释（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 测定-A 对照)÷A 空白]×100%