

超氧阴离子(O_2^-)试剂盒

【产品简介】 ◆当生物体遭受外界胁迫时，生物体内超氧阴离子等活性氧大量产生和积累，可作为生物体氧化胁迫的信号。因此在逆境条件下生物体内超氧阴离子自由基的产生，可间接反映组织细胞受损状况和抗性强弱。超氧阴离子(O_2^-)与羟胺反应产生 NO_2^- ， NO_2^- 在对氨基苯磺酸和 α -萘胺作用下，生成粉红色的偶氮染料，该染料在540nm处有最大光吸收，根据 A_{540} 值可计算出样品中的 O_2^- 的含量。

【货号】 TC1019

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
提取液	液体110mL×1瓶	4℃	
试剂一	液体10mL×1瓶	4℃	
试剂二	液体14mL×1瓶	4℃	
试剂三	液体12mL×1瓶	4℃	临用前，可依据待检测样本数量，把试剂二和试剂三等比例混合成无色的反应mix(注意观察，若变粉色，则不能使用)。两天之内用完。
标准品	粉体mg×1支	4℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备：

①组织样本：

称取约0.1g组织(水分充足的样本可取0.5g)，加入1mL提取液，冰浴匀浆，然后12000rpm，4℃，离心10min，取上清作为粗体液，置于冰上待测。

注：a、可以按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

b、提取液尽快测定，请勿将样品进行长时间的低温保存，以免影响测定结果。

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提取液，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, 取上清液测定。

注:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③液体样本:直接检测。若浑浊,离心后取上清液检测。

2、上机检测:

①酶标仪预热30min, 调节波长至540nm。

②在EP管中依次加入:

试剂名称(uL)	测定管	空白管(只做一次)
样本	100	
提取液		100
试剂一	100	100
混匀, 37℃(可用恒温培养箱)反应10min		
反应 mix	200	200
混匀, 37℃反应5min(准确时间), 立即取出200uL至96孔板中(若浑浊可于8000rpm室温下离心5min后取200uL上清液), 于540nm处检测读取吸光度A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

注意:本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调;针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

3、结果计算:

①标准曲线方程: $y = 0.0488x - 0.0011$, x 是 NO_2^- 的摩尔质量(nmol), y 是 ΔA 。

②按照样本质量计算:

超氧阴离子含量(nmo/g鲜重) = $[(\Delta A + 0.0011) \div 0.0488] \div (V1 \div V \times W) \times 2 \times D = 410 \times (\Delta A + 0.0011) \div W \times D$

③按细菌/细胞计算:

超氧阴离子含量(nmol/ 10^4 cell) = $[(\Delta A + 0.0011) \div 0.0488] \div (V1 \div V \times 500) \times 2 \times D = 410 \times (\Delta A + 0.0011) \div 500 \times D$

④按照液体体积计算:

超氧阴离子含量(nmo/mL) = $[(\Delta A + 0.0011) \div 0.0488] \div V1 \times 2 \times D = 410 \times (\Delta A + 0.0011) \times D$

V —加入提取液体积, 1mL; $V1$ —反应中样本体积, 0.1mL;

W —样品鲜重, g; 500—细胞数量, 万;

D —稀释倍数, 未稀释即为 1; 2—生成1个 NO_2^- 需要 2个 O_2^- ;

标准品亚硝酸钠的分子量—69。

- 【注意事项】**
- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
 - 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
-