

## 抑制与产生超氧阴离子自由基 (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 测试盒

比色法: 50 管/48 样

### 一、试剂组成与配制:

试剂一: 液体 5ml×1 瓶 (天冷时或放冰箱会有部分结晶析出, 需热水浴溶解后再用);

试剂一应用液的配制: 用时每瓶 5ml 贮备液加双蒸水稀释至 50ml, 4℃保存 1 年。

试剂二: 液体 5ml×1 瓶, 4℃保存 1 年。

试剂三: 液体 5ml×1 瓶, 4℃保存 1 年。

试剂四: 贮备液 350 μl×1 支, -20℃保存; 稀释液 5ml×1 瓶, 4℃保存半年。

试剂四应用液的配制:按贮备液:稀释液=1:14 比例配制, 现用现配, 4℃保存, 不可冷冻。

试剂五: 粉剂×1 支, 用时加 70~80℃热双蒸水 37.5ml 溶解。配好后 4℃避光保存。

试剂六: 粉剂×1 支, 用时加双蒸水 37.5ml 溶解后备用, 配好后的试剂 4℃避光保存。

显色剂的配制: 按照 5 号试剂:6 号试剂:冰乙酸=3:3:2 的体积比配成显色剂, 4℃避光保存 3 个月 (冰乙酸自备)。

试剂七: Vc 标准品×4 支。

Vc 标准贮备液配制: 将一支 Vc 标准品加双蒸水定容至 5ml (Vc 标准配制后当天内使用)

0.15mg/ml Vc 标准品应用液配制: 取 1ml 贮备液加 4ml 双蒸水, 5 倍稀释现用现配。

[注]: Vc 标准品配置后见光极易分解, 配制的 0.15mg/ml Vc 标准应用液需 30 分钟内检测

冰乙酸 (分析纯, 乙酸浓度≥99.5%)

### 二、操作表:

	对照管	标准管	测定管
试剂一应用液 (ml)	1.0	1.0	1.0

双蒸水 (ml)	0.05		
0.15mg/ml Vc 标准品 (ml)		0.05	
样品 (ml)			0.05
试剂二 (ml)	0.1	0.1	0.1
试剂三 (ml)	0.1	0.1	0.1
试剂四应用液 (ml)	0.1	0.1	0.1
用旋涡混匀器充分混匀, 置 37℃ 恒温水浴 40 分钟			
显色剂 (ml)	2.0	2.0	2.0
混匀, 静置 10 分钟, 双蒸水调零, 1cm 光径, 波长 550nm 比色。			

### 三、计算公式及举例：（因各种物质不同，则定义及计算公式也不一样，具体如下：）

（一）血清（浆）中抗超氧阴离子自由基活力单位的公式及计算：

1、定义：在反应系统中，每升血清（浆）在 37℃ 反应 40 分钟所抑制的超氧阴离子自由基相当于 1mg 的维生素 C 所抑制的超氧阴离子自由基的变化值为一个活力单位。

2、计算公式：

$$\text{活力单位 (U/L)} = \frac{\text{对照 OD 值} - \text{测定 OD 值}}{\text{抗超氧阴离子}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{(0.15\text{mg/ml})} \times \frac{\text{样品测试前}}{\times 1000\text{ml} \times \text{的稀释倍数}}$$

(二) 组织中抗超氧阴离子自由基活力单位的公式及计算：

1、定义：

在反应系统中，每克组织蛋白在 37°C 反应 40 分钟所抑制的超氧阴离子自由基相当于 1mg 的维生素 C 所抑制的超氧阴离子自由基的变化值为一个活力单位。

2、计算公式：

$$\text{单位 (U/gprot)} = \frac{\text{对照 OD 值} - \text{测定 OD 值}}{\text{抗超氧阴离子活力}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{(0.15\text{mg/ml})} \times \frac{\text{待测样本蛋白}}{\times 1000\text{ml} \div \text{浓度 (gprot/L)}}$$

四、本法尚可检测产生超氧阴离子的改变，例如白细胞，某些中西药物等。其计算公式如下：

1、定义：

在反应系统中，每升（克）物质在 37°C 反应 40 分钟所产生的超氧阴离子自由基相当于 1mg 的维生素 C 所抑制的超氧阴离子自由基的变化值为一个活力单位。

2、计算公式：

公式一：产生超氧阴离子 = 测定 OD 值 - 对照 OD 值 × 活力单位 (U/L) 对照 OD 值 - 标准 OD 值

公式二：产生超氧阴离子 = 测定 OD 值 - 对照 OD 值 × 活力单位 (U/g) 对照 OD 值 - 标准 OD 值

标准品浓度		样品测试前
$(0.15\text{mg} / \text{ml})$	$\times 1000\text{ml} \times$	的稀释倍数
标准品浓度		样本浓度
$(0.15\text{mg} / \text{ml})$	$\times 1000\text{ml} \div$	$(\text{g} / \text{L})$

#### 五、测定原理：

模拟机体中黄嘌呤与黄嘌呤氧化酶反应系统，产生超氧阴离子自由基，加入电子传递物质及 gress 氏显色剂，使反应体系呈现紫红色，可用分光光度计测其吸光度，当被测样本中含有超氧阴离子自由基抑制剂时，则比色时测定管的吸光度低于对照管的吸光度，而如果被测样本中含有产生超氧阴离子自由基物质时，则比色时测定管的吸光度高于对照管的吸光度，通过以维生素 C 做标准，可计算出被检物品对超氧阴离子自由基的影响能力。