

## 组织细胞总抗氧化能力检测试剂盒 (Cu<sup>2+</sup>法) E2017

**描述:** 组织细胞总抗氧化能力检测试剂盒 (Cu<sup>2+</sup>法), 即 Total Antioxidant Capacity Assay Kit with Copper Ion Method 是一种灵敏简单的检测总抗氧化能力 (Total Antioxidant Capacity, TAOC) 的试剂盒。

**原理:** Cu<sup>2+</sup>法测定 TAOC 的原理是利用样品中抗氧化物还原 Cu<sup>2+</sup>为 Cu<sup>+</sup>, Cu<sup>+</sup>与反应体系中 Cu<sup>2+</sup>螯合剂螯合, 通过 570nm 吸光度可以测定 Cu<sup>+</sup>产生量, 从而测定样品 TAOC。利用具有强抗氧化能力的 Trolox 为标准品, 可以计算样品以 Trolox 为参照的 TAOC。

本试剂盒方便快捷, 加入待测样品 30 分钟即可进行吸光度测定。

**组成:** (1) Cu<sup>+</sup>螯合剂溶液 25 ml/瓶 (2) Cu<sup>2+</sup>溶液 0.5 ml/管  
(3) 10 mM Trolox 标准品溶液 0.5ml /管 (4) 组织细胞裂解液 100ml

**储存条件:** -20℃ 储存, 一年有效。

**所需设备:** 酶标仪 最佳波长 570nm

**适用范围:** 测定各类动物培养细胞、组织等。

### 操作步骤:

#### 1. 样品的准备

1.1 细胞样品的准备: 收集新鲜细胞(如果是贴壁细胞, 请用细胞刮刮下, 不宜使用胰酶和 EDTA 消化), PBS 洗涤细胞一次, 离心收集细胞, 吸尽上清。加入 200μl 预冷的组织细胞裂解液, 超声破碎细胞释放其中的抗氧化物。4℃, 10000g 离心 10 分钟。取上清用于总抗氧化能力的测定。不立即测定的样品可以-70℃ 保存。如果样品中总抗氧化能力超出测定范围, 可利用组织细胞裂解液适当稀释后测定, 稀释倍数请通过预实验确定。

1.2 组织样品的准备: 取 20mg 组织, 加入 400μl 的预冷的组织细胞裂解液, 用匀浆器冰浴匀浆。4℃, 10000g 离心 10 分钟。取上清用于总抗氧化能力的测定。不立即测定的样品可以-70℃ 保存。如果样品中总抗氧化能力超出测定范围, 可利用组织细胞裂解液适当稀释后测定, 稀释倍数请通过预实验确定。

#### 2. 试剂盒的准备

总抗氧化能力检测工作液的配制: 按下表比例取 Cu<sup>+</sup>螯合剂溶液和 Cu<sup>2+</sup>溶液配制总抗氧化能力检测工作液。

	1 个样品	10 个样品	50 个样品
Cu <sup>+</sup> 螯合剂溶液	200 μl	2 ml	10 ml
Cu <sup>2+</sup> 溶液	4 μl	40μl	200 μl

#### 3. 标准品的准备

利用 PBS 将 10mM 的 Trolox 溶液稀释成 1、0.5、0.25、0.125、0.062、0.031 mM 浓度的 Trolox 溶液, 用于标准曲线测定。每次测定新鲜配制系列标准品稀释液。

#### 4. 测定方法

4.1 参考下表, 使用 96 孔板, 依次加入总抗氧化能力检测工作液、样品或标准品后, 混匀, 室温孵育 30 分钟。

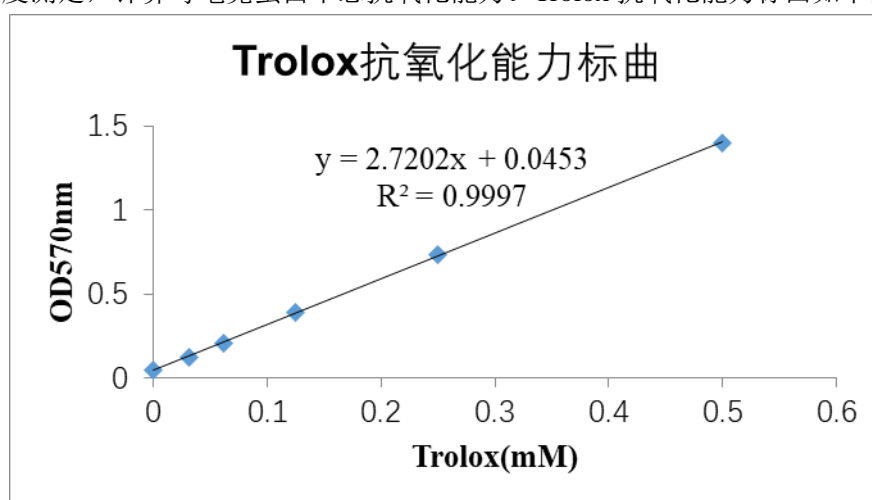
	空白对照	标准曲线	样品
总抗氧化能力检测工作液	200 μl	200 μl	200 μl

标准品	—	10 $\mu$ l	—
样品	—	—	10 $\mu$ l
PBS	10 $\mu$ l	—	—
室温孵育	30 min	30 min	30 in

4.2 孵育结束后, 利用酶标仪测定  $A_{570nm}$ 。如果样品吸光度过高, 可适当稀释样品后测定, 如果样品吸光度过低, 可适当冷冻干燥浓缩样品后测定。

## 5. 数据处理

利用标准品浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标制作 Trolox 抗氧化能力标准曲线, 并获得横纵坐标之间的函数关系式, 然后利用标曲和各样品的吸光度值计算样品的总抗氧化能力, 对于细胞和组织样品, 可以根据样品中蛋白浓度测定, 计算每毫克蛋白中总抗氧化能力。Trolox 抗氧化能力标曲如下图所示:



## 参考文献:

1. Valko, M. et al., 2006. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell.Bio., 39(1): 44-84.
2. Sies, H., 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Exp. Physiol., 82(2): 291-295.

## 注意事项:

1. 本试剂盒检测涉及氧化还原反应, 很多氧化剂和还原剂都会干扰试剂盒的测定, 特别是巯基乙醇、DTT 等含有巯基的试剂会严重干扰本试剂盒的测定, 请尽量避免。
2. 每次测定同时利用标准品制作标准曲线。
3. 初次使用试剂盒时, 粉末试剂和小体积液体试剂请适当离心后使用。
4. 本产品仅限专业人员用于科学研究, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。