

超氧化物检测试剂盒（化学发光法）

Superoxide Assay Kit (Chemoluminescence)

产品编号	产品名称	规格
TE-MB-001	Superoxide Assay Kit (Chemoluminescence)	100T

产品简介

超氧化物检测试剂盒（Superoxide Assay Kit）是一种用于细胞内超氧化物检测的试剂盒。超氧化物通常指超氧阴离子(Superoxide anion)，是一种氧分子的自由基，在细胞内主要由 NADPH 氧化酶和黄嘌呤氧化酶催化产生。超氧阴离子是一种强氧化剂，主要由中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞为代表的免疫细胞在各种应激条件下产生，从而抵御微生物的感染。在病理条件下，过度产生的超氧阴离子，也会导致机体损伤和引发各种疾病。

Lucigenin 是用于超氧化物检测的化学发光底物，不能进入细胞膜结构完整的细胞，能够在细胞外与细胞产生的超氧化物反应，同时伴有化学发光反应。通过检测化学发光反应，可以用于分析细胞的超氧化物的产生。从而用于病理生理研究或抗氧化药物筛选。本试剂盒利用能够刺激中性粒细胞产生超氧化物的佛波酯（Phorbol-12-myristate-13-acetate, PMA）为阳性对照。

试剂组成

组份编号	组份名称	规格	数量
TE-MB-001-1	Lucigenin Solution	100 μ l/管	1
TE-MB-001-2	PMA Solution	50 μ l/管	1
—	说明书	份	1

需要而未提供的试剂及器材

1. 细胞
2. 细胞培养用 PBS
3. 系列可调节量程移液器及吸头
4. 干净的试管、离心管及白色 96 孔板
5. 化学发光酶标仪

储存条件

-20℃储存，有效期 12 个月。

注意事项

1. Lucigenin Solution 和 PMA Solution 请尽量避免反复冻融，可以适当分装。
2. 初次使用试剂时，请适当离心后使用。

- 初次测定超氧化物，可取小鼠骨髓细胞， 5×10^5 细胞/孔，接种到白色 96 孔板中，加入 Lucigenin (稀释 100 倍)，然后利用 PMA (稀释 1000 倍) 刺激 1 小时，检测超氧化物作为阳性对照。
- 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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

- 细胞接种及处理：取需要测定的细胞，利用培养基或 HBSS 缓冲液调整到合适浓度后，接种到白色 96 孔板中。然后加入 Lucigenin (利用培养基或 HBSS 缓冲液稀释 100 倍)， 37°C 孵育 15 分钟，然后加入超氧化物产生的刺激剂， 37°C 孵育一定时间。如果是评价药物活性，可以在加入刺激剂前后加入药物共同孵育。具体检测体系设置如下表所示：

	对照组	刺激组
细胞	+	+
Lucigenin Solution	+	+
刺激剂	-	+

- 孵育结束后，利用化学发光酶标仪读取相对发光强度 (RLU)；如果需要测定不同时间点的超氧化物产生量，可以连续检测相对发光强度。

数据处理

利用对照组和刺激组细胞 RLU 平均值和相对标准偏差制作直方图，并利用 Student's t test 统计两组数据直接的差异。如下图所示：

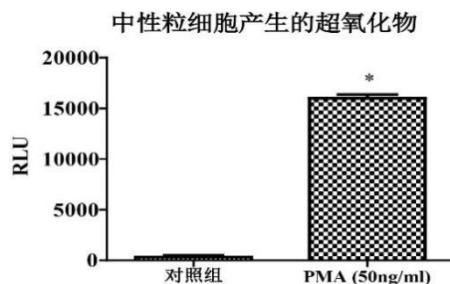


图 1：Lucigenin 检测中性粒细胞产生的超氧化物。取 BALB/c 小鼠骨髓细胞，接种到 96 孔板中，加入 Lucigenin 后，再加入 PMA 刺激 1 小时，然后利用化学发光酶标仪测定相对发光强度，分析中性粒细胞超氧化物的产生。* $P < 0.05$ vs 对照组。

参考文献

- Kirchner T., Moller S., Klinger M., et al., 2012. The impact of various reactive oxygen species on the formation of neutrophil extracellular traps. *Mediators Inflamm.* 2012: 849136.
- Li Y., Zhu H., Kuppusamy P., et al., 1998. Validation of lucigenin (bis-N-methylacridinium) as a chemilumigenic probe for detecting superoxide anion radical production by enzymatic and cellular systems. *J. Biol. Chem.* 273 (4): 2015-2023.