

抗坏血酸 (AsA) 含量测定试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1184

产品规格: 100管/96样

产品简介:

AsA又称维生素c。AsA是辅酶、自由基清除剂、电子共体/受体和草酸盐与酒石酸盐生物合成的底物等。作为植物细胞中最重要的抗氧化剂, AsA在保护叶绿体免于氧化损伤起着举足轻重的作用, 也是衡量农作物产品品质的重要指标之一。

抗坏血酸氧化酶 (AAO) 催化AsA氧化生成DHA, 通过测定AsA的氧化速率, 即可计算出AsA含量。

产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体10μL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1瓶	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂三: 液体置于试剂瓶内EP管中。临用前根据用量按照试剂三:试剂二为1:250的体积比例充分混匀, 现用现配;
2. 标准品: 临用前配置, 加入5.679mL蒸馏水充分溶解, 即10mmol/L AsA; 吸取0.04mL上述溶液, 加入0.96mL蒸馏水, 混匀, 即400μmol/L AsA。

技术指标:

最低检出限: 0.7539μmol/L

线性范围: 6.25-1400μmol/L

注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

研钵/匀浆器、冰、低温离心机、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板 (UV板)、可调式移液器、蒸馏水。

操作步骤:

1. 组织: 按照组织质量 (g): 试剂一体积(mL)为 1: 5~10的比例 (建议称取约0.1g组织, 加入1mL试剂一) 进行冰浴匀浆。8000g, 4℃离心20min, 取上清置冰上待测。
2. 细菌、细胞: 按照细胞数量 (10⁴个): 试剂一体积 (mL) 为500~1000: 1的比例 (建议500万细胞加入1mL试剂一), 冰浴超声波破碎细胞 (功率300w, 超声3秒, 间隔7秒, 总时间3min); 8000g, 4℃离心20min, 取上清液置冰上混匀待测。
3. 血清等液体: 直接测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

二、测定操作:

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min, 调节波长到265nm, 蒸馏水调零。
2. 试剂二在25℃水浴锅中预热30min以上。
3. 标准管: 依次在微量石英比色皿/96孔板中加入20 μL标准液、160 μL试剂二和20 μL试剂三, 迅速混匀后于265nm测定, 记录30s和150s的吸光值A1和A2。 $\Delta A_{\text{标准管}}=A1-A2$ 。
4. 测定管: 依次在微量石英比色皿/96孔板中加入20 μL上清液、160 μL试剂二和20 μL试剂三, 迅速混匀后于265nm测定, 记录30s和150s的吸光值A3和A4。 $\Delta A_{\text{测定管}}=A3-A4$ 。

注意: 如果样本数量较大。可将试剂二与试剂三按照8:1的体积比混匀配成工作液使用, 根据样本所需现配现用, 禁止一次性配完。加样顺序为180 μL工作液、20 μL上清液(或标准液), 加入上清液(或标准液)即开始计时。(标准管只需测定1-2次)。

三、AsA含量计算公式:

(1) 按蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{AsA (nmol/mg prot)} &= (\text{C标准液} \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times V_{\text{样}}) \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \\ &= 400 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{AsA (nmol/g 质量)} &= (\text{C标准液} \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times V_{\text{样}}) \div (\text{W} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 400 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div \text{W} \end{aligned}$$

(3) 按细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{AsA (nmol/10}^4\text{cell)} &= (\text{C标准液} \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times V_{\text{样}}) \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 400 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

(4) 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{AsA (nmol/mL)} &= (\text{C标准液} \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times V_{\text{样}}) \div V_{\text{样}} \\ &= 400 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \end{aligned}$$

C标准液: 标准液的浓度, 400 μmol/L=400nmol/mL; V样总: 上清液总体积, 1.0mL; V样: 加入反应体系中上清液体积, 0.02mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 细胞数量: 以10⁴为单位计量, 万。

注意事项:

1. 试剂三和标准品现配现用, 配制好的4℃保存, 3天内使用完。
2. 如果样本初始吸光值大于1.4, 建议将样本用试剂一稀释后进行测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com