



脱氢抗坏血酸 (DHA) 含量检测试剂盒
Dehydroascorbate (DHA) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



脱氢抗坏血酸 (DHA) 含量检测试剂盒

Dehydroascorbate (DHA) Content Assay Kit

一、产品描述

抗坏血酸 (AsA) 是生物体代谢过程中重要的营养元素, 其中脱氢抗坏血酸 (DHA) 作为抗坏血酸的可逆氧化型, 能够与抗坏血酸共同组成氧化还原系统, 具有电子受体的作用, 与细胞分裂和分化、植物开花时间以及对环境胁迫的响应密切相关。

二硫苏糖醇 (DTT) 能够将脱氢抗坏血酸还原为抗坏血酸, 抗坏血酸在 265 nm 处具有特征吸收峰, 通过测定其生成速率即可定量检测脱氢抗坏血酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C避光保存	使用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (配置后可分装-20°C保存, 避免反复冻融)
标准品	粉剂×1 瓶	-20°C避光保存	使用前加入 5.743 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 5 μmol/mL DHA 标准液, 可分装后-20°C保存)
标准应用液的制备: 将 5 μmol/mL DHA 标准液使用蒸馏水稀释至 1 μmol/mL 即为标准应用液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿 (光径 10 mm) /96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴和蒸馏水。

1. 脱氢抗坏血酸的提取 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量(10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 300 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 总时间 3 min), 4°C 15000 g 离心 20 min, 取上清置于冰上待测。

②组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 15000 g 离心 20 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或使用提取液适当稀释后再进行测定。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 265 nm，蒸馏水调零。
- ②使用前将试剂一 25℃预热 30 min 以上。
- ③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	标准组 (μL)
待测样本	20	-
标准应用液	-	20
试剂一	160	160
试剂二	20	20

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 265 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 标准；②准确反应 120 s 后，测定 130 s（总时间）时 265 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 标准；③计算 ΔA 测定 = A2 测定 - A1 测定， ΔA 标准 = A2 标准 - A1 标准。注：标准组只需测定 1-2 次。

3.脱氢抗坏血酸（DHA）含量计算

- ①按组织蛋白浓度计算

$$\text{DHA } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

- ②按组织样本质量计算

$$\text{DHA } (\mu\text{mol/g}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

- ③按细菌或细胞数量计算

$$\text{DHA } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

- ④按液体样本体积计算

$$\text{DHA } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}}} = \frac{\Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

注释：C 标：标准应用液浓度，1 μmol/mL；V 样总：待测样本总体积，1.0 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；细菌或细胞数量：以万计；D：液体样本稀释倍数。

四、注意事项

①准确在 10 s 和 130 s 处完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性；若使用 96 孔 UV 板应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

②若 A2 测定>1.4（96 孔 UV 板>0.7）或 ΔA 测定>0.5（96 孔 UV 板>0.3），建议将待测样本使用提取液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

