

版本:精简版 修改日期:2023.12.26

辅酶 Q10(CoQ10)检测试剂盒(微板法)

产品简介:

輔酶 Q(Coenzyme Q, CoQ)是一种生物体内广泛存在的脂溶性醌类化合物,故又称泛醌,在体内呼吸链中质子移位及电子传递中起重要作用,是呼吸链中重要的递氢体,它是细胞呼吸和细胞代谢的激活剂,也是重要的抗氧化剂和非特异性免疫增强剂。对多种酶有激活作用。不同生物体来源的辅酶 Q 其侧链异戊烯单位的数目不同,人类和哺乳动物是 10 个异戊烯单位,故称辅酶 Q_{10} 。辅酶 Q_{10} 是辅酶 Q 类的重要成员之一,它们与线粒体内膜相结合,广泛参与体内的生物代谢过程。

辅酶 Q₁₀ 不仅能给心脏提供动力,还具有卓越的抗氧化、清除自由基功能,能预防血管壁脂质过氧化,预防动脉粥样硬化,并且无任何毒副作用。具体作用体现在以下四个方面:

- ①帮助保护心脏 辅酶 Q₁₀ 有助于为心肌提供充足氧气,预防突发性心脏病,尤其在心肌缺氧过程中辅酶 Q₁₀ 发挥关键性改善作用。
- ②保护皮肤 长期使用辅酶 Q10 能够有效防止皮肤衰老,减少脸部皱纹。
- ③抗疲劳 辅酶 Q₁₀ 使细胞保持良好健康的状态,因而机体充满活力,精力旺盛,脑力充沛。它是细胞自身产生的天然抗氧化剂和细胞代谢启动剂,具有保护和恢复生物膜结构的完整性、稳定膜电位作用,是机体的非特异性免疫增强剂,因此显示出极好抗疲劳作用。
- ④防癌抗癌 研究表明,辅酶 Q₁₀ 有抗肿瘤作用,临床对于晚期转移性癌症有一定疗效。 Leagene 辅酶 Q₁₀(CoQ₁₀)检测试剂盒(微板法)其检测原理是待测样品在碱性条件下,EC 取代了 CoQ₁₀ 上的甲氰基,形成蓝色化合物,通过酶标仪测定 620nm 处吸光度值,根据标准 曲线即可测出辅酶 Q₁₀ 的含量。本产品可用于测定花生、牛肉、沙丁鱼、保健品等食品中的 CoQ₁₀ 的含量。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号	TE1010	Storogo
名称	100T	Storage
试剂(A): CoQ ₁₀ 标准(1mg/ml)	0.5ml	-20℃ 避光
试剂(B): EC solution	5ml	RT 避光
试剂(C): EC buffer	25ml	RT
试剂(D): CoQ ₁₀ Assay buffer	5ml	4°C
使用说明书	1份	



自备材料:

- 1、无水乙醇、蒸馏水、三氯甲烷或正己烷等提取试剂
- 2、电子天平、烧瓶、水浴锅、酶标仪、96 孔板、超声波

操作步骤(仅供参考):

1、准备样品:

- ①新鲜动物心脏或肝脏样品:用醇碱皂化法、溶剂皂化法等提取(方法见附二)。
- ②动物血清样品: 0.1 ml 血清加入 0.9 ml 三氯甲烷,持续摇动以上,使 CoQ_{10} 充分提取出来。如果检测结果较低,可以降低三氯甲烷的加入量。
- ③细胞样品:取一定数量的细胞加入生理盐水或 PBS,用匀浆器匀浆或超声破碎处理,高速离心,留取上清。后续参考血清样品操作。
- ④保健食品:参考 GB/T 22252-2008 《保健食品中辅酶 Q_{10} 的测定》中样本的提取方法。 具体如下:根据试样中 CoQ_{10} 含量,称取 $1\sim5g$ 均匀试样(精确至 0.001g),置于 25ml 棕色容量瓶中,加正己烷 20ml,超声提取后,加正己烷至刻度,摇匀,量取 1.0ml 上述溶液于 10ml 棕色容量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,混匀,0.45μm 滤膜过滤,滤液备用。
- ⑤酵母菌等发酵菌体样品:用醇碱皂化法提取,提取方法参考如下:

将湿菌体移入 150ml 圆底烧瓶,加入 0.7g 焦性没食子酸、2.5g 氢氧化钾、19ml 甲醇和 7ml 蒸馏水,混匀。90℃水浴锅中回流,迅速冷却至室温,倒入分液漏斗中,加入石油醚 (正己烷、三氯甲烷或丙酮)等有机溶剂 40ml,剧烈震荡 5min,萃取 CoQ₁₀,连续萃取 2次,合并萃取液,用蒸馏水洗涤至中性,加入 5g 无水硫酸钠干燥。用旋转蒸发仪 50℃浓缩至浓稠液,加入 10ml 无水乙醇,放入冰箱冷冻析出胆固醇等杂质,过滤,滤液定容至 100ml 待用。

2、CoQ₁₀加样:按照下表设置空白管、标准管和测定管,溶液应按顺序依次加入,并注意避免产生气泡。如果样品中的 CoQ₁₀浓度过高,可减少样品用量或用 EC buffer 稀释后再进行测定。

加入物(µl)	空白孔	标准孔	待测孔
EC buffer	200	175	175
CoQ ₁₀ 标准(1mg/ml)	-	25	-
待测样品(提取液)	-	-	25
EC solution	50	50	50
CoQ ₁₀ Assay buffer	50	50	50

3、 CoQ_{10} 测定:混匀,室温避光孵育,酶标仪 620nm(600~640nm 亦可)处测定标准管或测定管的吸光度。



计算:

液体样品辅酶 Q₁₀ 浓度: CoQ₁₀(mg/ml)=A _{测定}/A _{标准}×1

液体样品辅酶 Q₁₀ 含量: CoQ₁₀(mg) = A 测定/A 标准×1×V_T

每 100g 固体样品辅酶 Q₁₀ 含量: CoQ₁₀(mg)= A 测定/A 标准×1×V_T×100/m

式中: A 测定=测定管的吸光度

A_{标准}=标准管的吸光度

1= CoQ₁₀ 标准的浓度(mg/ml)

V_T=CoQ₁₀提取液的总体积(ml)

m=样品的实际用量(g)

注意事项:

- 1、 CoQ₁₀ 标准(1mg/ml)、CoQ₁₀ Assay buffer 如果出现浑浊可超声波助溶后再进行标准浓度稀释。
- 2、 待测样品中不能含有 CoQ₁₀ 抑制剂,同时需避免反复冻融。
- 3、 在皂化过程中, 震荡不要剧烈, 以免形成乳化层。
- 4、 EC solution 有一定毒性,请小心操作。
- 5、 检测标准品时,按步骤 3 表格混合后, 2min 内即出现明显的蓝色变化并逐渐加深, 20min 后蓝色开始变浅, 30min 后逐渐呈黄绿色。630nm 检测数据表明,随着时间的延长,OD 值在不断的下降,对应的颜色也已发生变化,特别是高浓度的标准品变化比较大。因此,应在出现最深的蓝色结果且稳定的时间段内尽快检测,而且建议每次同时检测标准品(0.5~1mg/ml)和样品。如有条件,最好用酶标仪检测,减少因检测时间导致的误差。
- 6、 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 7、 试剂开封后请尽快使用,以防影响后续实验效果。

有效期: 6 个月有效。低温运输,按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称	
CA0005	氨苄青霉素溶液(Ampicillin,50mg/ml)	
DH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)	
PE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒	
TC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)	
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)	