

辅酶 Q₁₀(CoQ₁₀)检测试剂盒(微板法)

产品简介：

辅酶 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 Q₁₀。辅酶 Q₁₀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。

Biorigin e 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上的甲氧基,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：

名称	编号	Storage
	BN27287 100T	
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℃
使用说明书	1 份	

自备材料：

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

- 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：0.1ml 血清加入 0.9ml 三氯甲烷，持续摇动 30min 以上，使 CoQ₁₀ 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 Q₁₀ 的测定》中样本的提取方法。具体如下：根据试样中 CoQ₁₀ 含量，称取 1~5g 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 20min 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 30min，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。用旋转蒸发器 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、CoQ₁₀ 测定：混匀，室温避光孵育 3~5min，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： $\text{CoQ}_{10}(\text{mg/ml}) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 1$

液体样品辅酶 Q₁₀ 含量： $\text{CoQ}_{10}(\text{mg}) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 1 \times V_{\text{T}}$

每 100g 固体样品辅酶 Q₁₀ 含量： $\text{CoQ}_{10}(\text{mg}) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 1 \times V_{\text{T}} \times 100/m$

式中： $A_{\text{测定}}$ = 测定管的吸光度

$A_{\text{标准}}$ = 标准管的吸光度

1 = CoQ_{10} 标准的浓度(mg/ml)

V_{T} = CoQ_{10} 提取液的总体积(ml)

m = 样品的实际用量(g)

注意事项：

- 1、 CoQ_{10} 标准(1mg/ml)、 CoQ_{10} 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 CoQ_{10} 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。

附一：CoQ₁₀的提取方法（来源于网络，仅供参考）**方法一、醇碱皂化法**

皂化液的制备 取猪心残渣，压干称重，按干渣重加 300g/L 工业焦性没食子酸，搅匀，加醇-碱溶液(干渣重 3~3.5 倍量乙醇、320g/L 氢氧化钠)，加热搅拌回流 25~30min，迅速冷却至室温，得皂化液。

浓缩液的制备 取皂化液，立即加入其体积 1/10 量的石油醚或 120 号汽油提取 3~4 次，搅拌，分层，得提取液。水洗至近中性，在 40℃以下浓缩至原体积的 1/10，冷却，-5℃以下静置过夜，过滤，得浓缩液。

辅酶 Q₁₀精制品的制备 将浓缩液过硅胶柱层析，先后用石油醚、10%乙醚-石油醚洗脱，收集洗脱液，回收溶剂，得黄色油状物。加热无水乙醇溶解，过滤，滤液静置，冷却结晶，真空干燥，得辅酶 Q₁₀ 精制品。

方法二、醇醚混合溶剂提取法

辅酶 Q₁₀粗制品的制备 取猪心残渣，加 1.5 倍量的 $V_{\text{乙醇}}:V_{\text{乙醚}}=3:1$ 混合溶剂，加热提取 3~4 次，每次 15~20min，冷至室温，过滤，合并提取液。浓缩，加适量水，加石油醚提取，提取液浓缩，浓缩物为黄色油状物，即辅酶 Q₁₀ 粗制品。

辅酶 Q₁₀成品的制备 取辅酶 Q₁₀ 粗制品，加丙酮溶解，置-10℃以下析出杂质，过滤，滤液蒸去丙酮，加少量石油醚溶解，过硅胶柱层析分离，加无水乙醇结晶，得辅酶 Q₁₀ 成品。