

## 辅酶 Q<sub>10</sub>(CoQ<sub>10</sub>)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 Q<sub>10</sub>。辅酶 Q<sub>10</sub>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 Q<sub>10</sub>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 Q<sub>10</sub>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 Q<sub>10</sub>发挥关键性改善作用。
- ②保护皮肤 长期使用辅酶 Q<sub>10</sub>能够有效防止皮肤衰老,减少脸部皱纹。
- ③抗疲劳 辅酶 Q<sub>10</sub>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 Q<sub>10</sub>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 Q<sub>10</sub>(CoQ<sub>10</sub>)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 CoQ<sub>10</sub>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 Q<sub>10</sub>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 CoQ<sub>10</sub>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	TE1010 100T	Storage
试剂(A): CoQ <sub>10</sub> 标准(1mg/ml)		0.5ml	-20°C 避光
试剂(B): EC solution		5ml	RT 避光
试剂(C): EC buffer		25ml	RT
试剂(D): CoQ <sub>10</sub> 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: 0.1ml 血清加入 0.9ml 三氯甲烷, 持续摇动 30min 以上, 使 CoQ<sub>10</sub> 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<sub>10</sub> 的测定》中样本的提取方法。具体如下: 根据试样中 CoQ<sub>10</sub> 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°C 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 CoQ<sub>10</sub>, 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°C 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、CoQ<sub>10</sub> 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 CoQ<sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 标准(1mg/ml)	-	25	-
待测样品(提取液)	-	-	25
EC solution	50	50	50
CoQ <sub>10</sub> Assay buffer	50	50	50

- 3、CoQ<sub>10</sub> 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 Q<sub>10</sub> 浓度:  $CoQ_{10}(mg/ml) = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 1$

液体样品辅酶 Q<sub>10</sub> 含量:  $CoQ_{10}(mg) = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 1 \times V_T$

每 100g 固体样品辅酶 Q<sub>10</sub> 含量:  $CoQ_{10}(mg) = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 1 \times V_T \times 100 / m$

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。

**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)

**附一：CoQ<sub>10</sub>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 Q<sub>10</sub>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 Q<sub>10</sub> 精制品。

**方法二、醇醚混合溶剂提取法**

**辅酶 Q<sub>10</sub>粗制品的制备** 取猪心残渣，加 1.5 倍量的 V<sub>乙醇</sub>: V<sub>乙醚</sub>=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 Q<sub>10</sub> 粗制品。

**辅酶 Q<sub>10</sub>成品的制备** 取辅酶 Q<sub>10</sub> 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 Q<sub>10</sub> 成品。