

辅酶 Q10(CoQ10)检测试剂盒(微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

辅酶 Q(CoenzymeQ, 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。

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	规格	保存温度
辅酶 Q10(CoQ10)检测试剂盒	100T	4℃
试剂(A):CoQ10 标准(5mg/ml)	0.1ml	-20℃避光
试剂(B):ECsolution	5ml	RT 避光
试剂(C):ECbuffer	25ml	RT
试剂(D):CoQ10Assaybuffer	5ml	RT
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

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、分光光度计或酶标仪、比色杯或 96 孔板

操作步骤(仅供参考):

1、稀释标准品: 用 ECbuffer 稀释 CoQ10 标准(5mg/ml)至 0.5mg/ml, -20℃ 保存备用。

2、准备样品:

①新鲜动物心脏或肝脏样品: 用醇碱皂化法、溶剂皂化法等提取适量的 CoQ10 提取液, -20℃ 保存备用。

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保健食品: 参考 GB/T22252-2008《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, 0.45 μm 滤膜过滤, 滤液备用。

④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。

3、CoQ10 加样: 按照下表设置空白、标准和测定, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。如果样品中的 CoQ10 浓度过高, 可适当减少样品用量或用 ECbuffer 稀释后再进行测定。

普通分光光度计(2ml 比色杯)CoQ10 测定			
加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
ECbuffer	2	1.75	1.75
CoQ10 标准(0.5mg/ml)	—	0.25	—
待测样品(提取液)	—	—	0.25
ECsolution	0.5	0.5	0.5
CoQ10Assaybuffer	0.5	0.5	0.5

酶标仪 CoQ10 测定			
加入物(μl)	空白孔	标准孔	待测孔
ECbuffer	200	175	175
CoQ10 标准(0.5mg/ml)	-	25	-
待测样品(提取液)	-	-	25
ECsolution	50	50	50
CoQ10Assaybuffer	50	50	50

4、CoQ10 测定：混匀，室温避光孵育 3~5min，以空白管调零，比色杯光径 1cm，分光光度计或酶标仪 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： $\text{CoQ10(mg/ml)} = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 0.5$

液体样品辅酶 Q10 含量： $\text{CoQ10(mg)} = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 0.5 \times VT$

每 100g 固体样品辅酶 Q10 含量： $\text{CoQ10(mg)} = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 0.5 \times VT \times 100/m$

式中：A 测定=测定管的吸光度

A 标准=标准管的吸光度

0.5=CoQ10 标准的浓度(mg/ml)

VT=CoQ10 提取液的总体积(ml)

m=样品的实际用量(g)

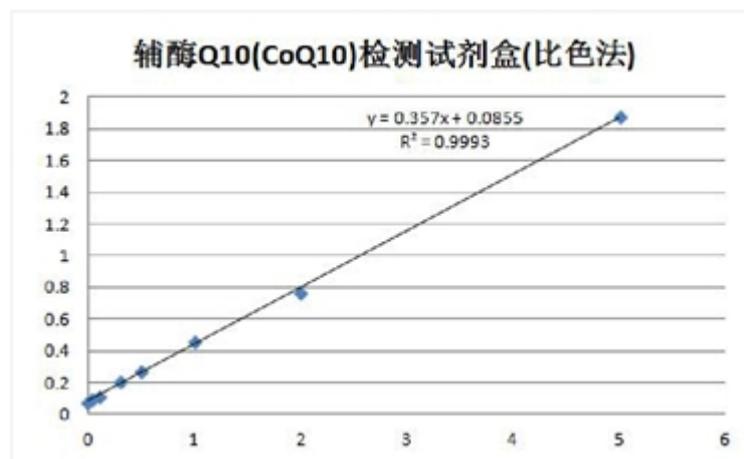
注意事项：

- 1、待测样品中不能含有 CoQ10 抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 2、在皂化过程中，震荡不要剧烈，以免形成乳化层。
- 3、CoQ10Assaybuffer 如果出现浑浊或絮状物，应弃用。
- 4、CoQ10 标准梯度应准确，尽量减少不必要的误差。
- 5、ECsolution 有一定毒性，请小心操作。
- 6、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(0.3~0.5mg/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。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品：

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

附一：参考标准曲线范围：测定 CoQ10 标准 0.04、0.1、0.3、0.5、1、2、5mg/ml 在 630nm 的吸光度，据此做出其标准曲线如下：



附二：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 乙醇：V 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。