

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒 (分光光度计法) (本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0095	超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 60mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 15mL × 1 瓶	4℃
试剂二	粉剂 ×1 瓶: 临用前加入 21mL 蒸馏水, 充分摇匀悬浊液。	4℃
试剂三	液体 175μL ×1 瓶: 临用前和蒸馏水 1:1 稀释混匀。	4℃
试剂四	液体 10mL × 1 瓶	4℃

一、产品说明

超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD) (EC 1.15.1.1) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 催化超氧化物阴离子发生歧化作用, 生成 H₂O₂ 和 O₂。SOD 不仅是超氧化物阴离子清除酶, 也是 H₂O₂ 主要生成酶, 在生物抗氧化系统中具有重要作用。

通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子(O²⁻), O²⁻可还原氮蓝四唑生成蓝色甲臞, 后者在 560nm 处有吸收; SOD 可清除 O²⁻, 从而抑制了甲臞的形成; 反应液蓝色越深, 说明 SOD 活性愈低, 反之活性越高。

二、自备材料

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品制备

- 1、组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞/细菌: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10⁴ 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 1mL 提取液), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、血浆/血清: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 560nm, 蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂一、二和四 37℃ (哺乳动物) 25℃ (其他物种) 水浴 5min 以上。
- 3、在 EP 管中依次加入下列试剂:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂一	240	240

试剂二	510	510
稀释后的试剂三	6	6
样本	90	
试剂四	180	180
蒸馏水		90
充分混匀, 室温静置 30min 后, 加入 1mL 玻璃比色皿, 560nm 处测定各管吸光值 A。		

五、SOD 活性的计算

1、抑制百分率的计算:

抑制百分率 = (A 对照管 - A 测定管) ÷ A 对照管 × 100%。

尽量使样本的抑制百分率在 30-70% 范围内。如果计算出来的抑制百分率小于 30% 或大于 70%，则通常需要调整加样量后重新测定。如果测定出来的抑制百分率偏高，则需将样本用提取液适当稀释；如果测定出来的抑制百分率偏低，则需重新准备浓度比较高的待测样本。

2、SOD 酶活性单位: 在上述黄嘌呤氧化酶耦联反应体系中抑制百分率为 50% 时, 反应体系中的 SOD 酶活力定义为一个酶活力单位(U/mL)。

3、按照样本蛋白浓度计算:

SOD 活性(U/mg prot) = [抑制百分率 ÷ (1 - 抑制百分率) × V 反总] ÷ (V 样 × Cpr) × 样本稀释倍数
= 11.4 × 抑制百分率 ÷ (1 - 抑制百分率) ÷ Cpr × 样本稀释倍数。

需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

4、按照样本鲜重计算:

SOD 活性(U/g 鲜重) = [抑制百分率 ÷ (1 - 抑制百分率) × V 反总] ÷ (W × V 样 ÷ V 样总) × 样本稀释倍数
= 11.4 × 抑制百分率 ÷ (1 - 抑制百分率) ÷ W × 样本稀释倍数。

5、按照细胞/细菌数量计算:

SOD 活力(U/10⁴ ceLL) = [抑制百分率 ÷ (1 - 抑制百分率) × V 反总] ÷ (500 × V 样 ÷ V 样总) × 样本稀释倍数
= 0.0228 × 抑制百分率 ÷ (1 - 抑制百分率) × 样本稀释倍数。

6、按照血清/血浆体积计算:

SOD 活性(U/mL) = [抑制百分率 ÷ (1 - 抑制百分率) × V 反总] ÷ V 样 × 样本稀释倍数
= 11.4 × 抑制百分率 ÷ (1 - 抑制百分率) × 样本稀释倍数。

V 反总: 反应体系总体积, 1.026mL; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.09mL; V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万。

六、注意事项

1、试剂三为酶, 不可冷冻, 使用时在冰上放置。

2、对照管只需做一管。