

超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1067

产品规格：50管/24样

产品说明：

SOD（EC 1.15.1.1）是一种广泛存在于生物体内的金属酶，是重要的氧自由基清除剂，能催化超氧化物阴离子发生歧化作用，生成 H_2O_2 和 O_2 。SOD不仅是超氧化物阴离子清除酶，也是 H_2O_2 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(O_2^-)， O_2^- 可还原氮蓝四唑生成蓝色甲臍，后者在560nm处有吸收；SOD可清除 O_2^- ，从而抑制了甲臍的形成；反应液蓝色越深，说明SOD活性愈低，反之活性越高。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×2瓶	4℃
试剂一	液体15mL×1瓶	4℃
试剂二	液体160 μ L×1支	4℃
试剂三	液体11mL×1瓶	4℃
试剂四	粉剂×1支	4℃
试剂五	液体2mL×1瓶	4℃

溶液的配制：

1. 试剂二：使用前先离心再吹打混匀。
2. 试剂五：临用前将试剂四加入试剂五中，并震荡溶解。

需自备的仪器和用品：

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/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 细菌或培养细胞样本：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（ 10^4 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。
2. 组织样本：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。
3. 血清（浆）样本：直接检测。

二、测定步骤

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、三和五37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴5min以上。
3. 样本测定（在EP管中加入下列试剂）



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管1	空白管2
样本	90	90	-	-
试剂一	240	240	240	240
试剂二	6	-	6	-
试剂三	180	180	180	180
蒸馏水	480	486	570	576
试剂五	30	30	30	30

充分混匀, 37℃水浴30min后, 置于1mL玻璃比色皿测定560nm下的吸光度, 分别记为A测定、A对照、A1空白、A2空白, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ 。如底部有沉淀, 混匀后再行测定。(空白管1和空白管2各只需做1~2管, 每个样本有一个对照管)

三、SOD活性计算

1. 抑制百分率的计算:

$$\text{抑制百分率} = (\Delta A_{\text{空白}} - \Delta A_{\text{测定}}) \div \Delta A_{\text{空白}} \times 100\%$$

尽量使样本的抑制百分率在30-70%范围内, 越靠近50%越准确。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, 则需适当稀释样本; 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偶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。

3. SOD酶活性计算:

$$\begin{aligned} \text{(1) 血清(浆) SOD活性(U/mL)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \times F \\ &= 11.4 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times F \end{aligned}$$

(2) 组织、细菌或培养细胞SOD活力计算:

$$\begin{aligned} \text{A 按样本蛋白浓度计算SOD活性 (U/mg prot)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times F \\ &= 11.4 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div C_{\text{pr}} \times F \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B 按样本质量计算SOD活性 (U/g质量)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times F \\ &= 11.4 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times F \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C 按细菌或细胞数量计算SOD活力 (U/10}^4\text{cell)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times F \\ &= 0.0228 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times F \end{aligned}$$

V反总: 反应体系总体积, 1.026mL; V样: 加入反应体系中样本的体积, 0.09mL; V样总: 加入提取液体积, 1mL; 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, F: 样本稀释倍数。

注意事项:

1. 样本和试剂二使用时在冰上放置。
2. 样本较多时, 可按表格配制工作液(包含试剂一、二、三), 试剂五必须最后加入。
3. 反应完成后, 可能有沉淀生成, 混匀后测定即可。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号
 电话: 400-611-0007 13671551480
 Q Q: 807961520
 邮箱: saintbio@126.com
<http://www.saint-bio.com>