

超氧化物歧化酶 (SOD) 分型活性检测试剂盒

(测Cu-Zn、Mn、总) (微量法)

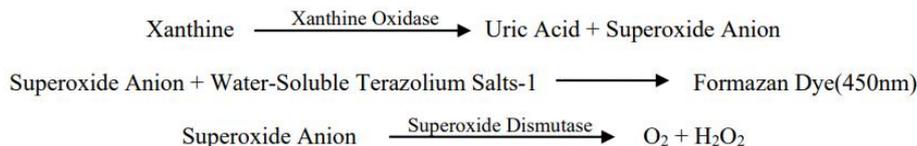
产品货号: BA2103

产品规格: 100T/48S

产品简介:

SOD (EC 1.15.1.1) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 根据其辅基结合金属离子的不同, 可分为铜锌SOD、锰SOD等类型, 铜锌SOD主要位于细胞质, 锰SOD主要位于线粒体。SOD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^- 可与WST-1反应生成水溶性黄色甲贖, 后者在450nm处有吸收峰; SOD可清除 O_2^- , 从而抑制了甲贖的形成; 反应液黄色越深, 说明SOD活性愈低, 反之活性越高。样本经过处理后铜锌SOD活性不变, 锰SOD活性丧失。通过测定总SOD活性和铜锌SOD活性, 可计算得到锰SOD活性。



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
提取液一	液体110mL×1瓶	2-8°C
提取液二	液体18mL×1瓶	2-8°C
试剂一	液体10mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体50μL×1瓶	2-8°C
试剂三	液体8mL×1支	2-8°C
试剂四	液体0.5mL×1支	2-8°C

溶液的配制:

1. 试剂二: 使用前先使用掌上离心机离心至管底再吹打混匀;
2. 试剂二工作液: 根据样本数量按试剂二: 蒸馏水=5μL: 245μL(共250μL, 可做约12个Cu-Zn-SOD样本或6个Mn-SOD样本)的比例配制试剂二工作液, 现用现配;
3. 试剂四工作液: 根据样本量按试剂四: 蒸馏水=20μL:180μL(共200μL, 约20T)的比例配制试剂四工作液, 现用现配。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、漩涡混匀仪/振荡器、水浴锅/恒温培养箱、电子天平、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。



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

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. 总 SOD 活性测定

- 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): 提取液一 体积(mL)=500-1000:1 的比例(建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液一)超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 8000g 4°C 离心 10min, 取全部上清, 部分用于测定总 SOD 活性。
- 2) 组织样本: 按照组织质量(g): 提取液一(mL)为 1:5-10 的比例(建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液一)进行冰浴匀浆; 8000g 4°C 离心 10min, 取全部上清, 部分用于测定总 SOD 活性。
- 3) 血清(浆)样本: 直接用于测定总 SOD 活性, 若有浑浊可离心后取上清进行测定。

2. 铜锌 SOD 活性测定

- 1) 取上一步提取得到的上清, 按照上清体积 (mL): 提取液二体积 (mL) =2:3 的比例 (建议取 0.2mL 上清加入 0.3mL 提取液二) 混合, 震荡混匀 1min, 4000g 4°C 离心 10min, 取最上层的上清用于测定铜锌 SOD 活性, 此上清即**样本处理上清**, 上清中铜锌 SOD 活性不变, 锰 SOD 活性丧失。

注: 混合液离心后分为 3 层, 取最上层溶液测定即可。

- 2) 按照蒸馏水体积 (mL): 提取液二体积 (mL) =2:3 的比例 (建议取 0.2mL 蒸馏水加入 0.3mL 提取液二) 混合, 震荡混匀 1min, 4000g 4°C 离心 10min, 取最上层的上清用于测定铜锌 SOD 活性的空白管, 此上清即**蒸馏水处理上清**。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 450nm, 分光光度计蒸馏水调零。
2. 测定前将试剂一、试剂三和试剂四工作液 37°C 水浴 5min 以上。
3. 加样表 (按顺序在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂)

试剂名称 (μL)	总 SOD 活性				铜锌 SOD 活性			
	测定管 1	对照管 1	空白管 1	空白管 2	测定管 2	对照管 2	空白管 3	空白管 4
样 本	20	20	-	-	-	-	-	-
样本处理上清	-	-	-	-	20	20	-	-
蒸馏水处理上清	-	-	-	-	-	-	20	20
试剂一	45	45	45	45	45	45	45	45
试剂二工作液	20	-	20	-	20	-	20	-
试剂三	35	35	35	35	35	35	35	35
蒸馏水	70	90	90	110	70	90	70	90
试剂四工作液	10	10	10	10	10	10	10	10

充分混匀, 37°C 水浴锅/恒温培养箱反应 30min 后, 置于微量玻璃比色皿/96 孔板测定 450nm 下的吸光度, 空白管 1、空白管 2、空白管 3 和空白管 4 只需做 1-2 次, 每个样本测定管需设置一个对照管。总 SOD 的记为 A1 测定、A1 对照、A1 空白、A2 空白, 计算 $\Delta A1 \text{ 测定} = A1 \text{ 测定} - A1 \text{ 对照}$, $\Delta A1 \text{ 空白} = A1 \text{ 空白} - A2 \text{ 空白}$ 。

铜锌 SOD 的记为 A2 测定、A2 对照、A3 空白、A4 空白, 计算 $\Delta A2 \text{ 测定} = A2 \text{ 测定} - A2 \text{ 对照}$, $\Delta A3 \text{ 空白} = A3 \text{ 空白} - A4 \text{ 空白}$ 。

三、SOD 活性计算

1. 抑制百分率的计算

总 SOD 抑制百分率 = $(\Delta A1 \text{ 空白} - \Delta A1 \text{ 测定}) \div \Delta A1 \text{ 空白} \times 100\%$

铜锌 SOD 抑制百分率 = $(\Delta A3 \text{ 空白} - \Delta A2 \text{ 测定}) \div \Delta A3 \text{ 空白} \times 100\%$

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



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

的抑制百分率偏低，则需重新准备浓度比较高的待测样本或者提高加样表中的样本量，但需相应减少测定管和对照管中蒸馏水的体积。注意同步修改计算公式。

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：

$$(1) \text{血清(浆)SOD 活性(U/mL)} = [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \times F \\ = 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times F$$

(2)组织、细菌或培养细胞 SOD 活力计算：

a.按样本蛋白浓度计算

$$\text{SOD 活性(U/mgprot)} = [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times F \\ = 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div C_{\text{pr}} \times F$$

b.按样本质量计算

$$\text{SOD 活性(U/g 质量)} = [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times F \\ = 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times F$$

c.按细菌或细胞数量计算

$$\text{SOD 活力(U/10}^4\text{cell)} = [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times F \\ = 0.02 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times F$$

(3)锰 SOD 活性=总 SOD 活性-铜锌 SOD 活性

V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：加入反应体系中的样本体积，0.02mL；V 样总：加入提取液体积 1mL；

Cpr：蛋白样本浓度，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. 样本和试剂二工作液使用时在冰上放置。
2. 样本较多时，可按表格配制测定管工作液和对照管工作液(包含试剂一、(试剂二工作液)、试剂三、蒸馏水)，试剂四工作液必须最后加入。
3. 本试剂盒可做 48 个锰-SOD 样本或者 96 个铜锌-SOD 样本。



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