

桑葚超氧化物歧化酶活性测定试剂盒(分光光度法)

产品货号: BA3284

产品规格: 50T

产品简介:

Mulberry Superoxide Dismutase(SOD)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臍,后者在560nm处有吸收;SOD可清除O₂⁻,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。

试剂盒组分:

试剂名称	96T	保存要求
试剂一	1瓶	2-8℃
试剂二	5瓶	2-8℃, 避光
试剂三	1支	-20℃, 避光
试剂四	1瓶	2-8℃

产品使用说明:

1. 粗酶液的提取:

按照组织质量(g):蒸馏水体积(mL)为1:5~10的比例(建议称取约0.1g组织,加入1mL蒸馏水),进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10min,取上清,置冰上待测。

2. 试剂准备

试剂二:用时每支加5.4mL蒸馏水,充分混匀,现配现用。

试剂三:临用前用350μL水溶解,未使用完的试剂放-20℃保存,避免反复冻融,使用时在冰上放置。

3. 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、二和四37℃(哺乳动物)25℃(其他物种)水浴5min以上。

3) 样本测定(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
试剂三	6	6
样本	90	-
试剂四	180	180
蒸馏水	-	90

4) 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。

4. 活性计算

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%



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

尽量使样本的抑制百分率在10-90%范围内。如果计算出来的抑制百分率小于10%或大于90%，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，则需将样本用蒸馏水适当稀释；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) SOD酶活性计算:

a. 按样本蛋白浓度计算

$$\text{SOD活性(U/mg prot)} = [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times \text{样本稀释倍数} \\ = 11.4 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div C_{\text{pr}} \times \text{样本稀释倍数}$$

b. 按样本鲜重计算

$$\text{SOD活性(U/g 鲜重)} = [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times \text{样本稀释倍数} \\ = 11.4 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times \text{样本稀释倍数}$$

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, 1mL;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL ;

W: 样本质量, g

注意事项:

1. 正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。
2. 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、冰和蒸馏水。
3. 本试剂盒50T测48个样。
4. 试剂二为过饱和试剂, 充分混匀后仍出现颗粒物不溶物不影响使用。
5. 试剂三为酶, 不可冷冻, 使用时在冰上放置。
6. 对照管只需要做一管。
7. 若对照管吸光值大于2, 建议将试剂三用蒸馏水稀释7倍后使用 (10 μ L试剂三原液+60 μ L蒸馏水)。
8. 对照管的范围是0.8-2。对照管吸光值过低可能是(1)试剂二或试剂三没有现配现用; (2)没有按顺序加试剂; (3)反应时间不够, 可以延长反应时间 (反应时间30min可以延长到40min)。对照管吸光值过高可能是试剂三未按操作说明书稀释相应倍数。
9. 若出现测定管大于对照管, 可能是样本中杂质的影响太大, 为了降低杂质的影响一般将样本提取上清液用蒸馏水或提取液稀释10倍后再测, 通常可以使测定正常。计算公式中乘以相应稀释倍数。

保存条件:

2-8 $^{\circ}$ C, 6个月有效。



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