

超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒

Superoxide dismutase Assay Kit

微量法

货号: AK535M

规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK535-提取液	60mL×1	4℃保存
AK535-A	5mL×1	4℃保存
AK535-B	25uL×1	4℃保存; 使用前先离心至管底再吹打混匀; 工作液: 根据样本数量按试剂 B: 蒸馏水=5uL: 245uL(共 250uL, 约 12S) 的比例配制工作液, 现用现配
AK535-C	4mL×1	4℃保存
AK535-D	0.12mL×1	4℃保存; 工作液: 根据样本量按试剂 D: 蒸馏水=20uL: 180uL(共 200uL, 约 20T) 的比例配制工作液, 现用现配。

简介:

意义: 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, 可以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。

原理: 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⁻可与 WST-1 反应生成水溶性黄色甲臆, 后者在 450nm 处有吸收; SOD 可清除 O₂⁻, 从而抑制了甲臆的形成; 反应液黄色越深, 说明 SOD 活性愈低, 反之活性越高。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、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。

样本处理:

1. 血清(浆)样品: 直接检测。
2. 细菌或培养细胞: 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. 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。

测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 450nm, 分光光度计蒸馏水调零。
2. 临用前根据样本数量取部分试剂 A、试剂 C 和试剂 D 工作液 37℃水浴 5min 以上。
3. 按顺序依次加入下列试剂:

试剂名称	测定管 (uL)	对照管 (uL)	空白管 1(uL)	空白管 2(uL)
样本	20	20		
AK535-A	45	45	45	45
AK535-B 工作液	20		20	

AK535-C	35	35	35	35
蒸馏水	70	90	90	110
AK535-D 工作液	10	10	10	10
充分混匀, 37°C反应 30min 后, 450nm 处测定各管吸光值 A。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$, $\Delta A_{空白} = A1_{空白} - A2_{空白}$ 。 注: 空白管 1 和空白管 2 各只需做 1~2 管; 每个样本设一个对照管。				

SOD 酶活力计算:

1. 抑制率的计算:

$$\text{抑制率} = (\Delta A_{空白} - \Delta A_{测定}) \div \Delta A_{空白}$$

尽量使样本的抑制率在 0.15-0.6 范围内。如果计算出来的抑制率不在此范围, 则通常需要调整加样量后重新测定。如果测定出来的抑制率偏高, 则需将样本用提取液适当稀释; 如果测定出来的抑制率偏低, 则需重新准备浓度比较高的待测样本。

2. SOD 酶活性计算:

(1) 血清(浆)样品 SOD 活力计算:

SOD 酶活性定义: 每毫升反应液中 SOD 抑制百分率为 50%时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(U)。

$$\text{SOD 活性(U/mL)} = \text{抑制率} \div 50\% \times F \times V_{反总} \div V_{样} = 20 \times \text{抑制率} \times F$$

(2) 组织 SOD 活力计算:

a. 按蛋白浓度计算:

SOD 酶活性定义: 每毫克组织蛋白在 1ml 反应液中 SOD 抑制率为 50%时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(U)。

$$\text{SOD 活性(U/mg prot)} = \text{抑制率} \div 50\% \times F \times V_{反总} \div V_{样} \div Cpr = 20 \times \text{抑制率} \div Cpr \times F$$

b. 按蛋白质量计算:

SOD 酶活性定义: 每克组织蛋白在 1ml 反应液中 SOD 抑制率为 50%时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(U)。

$$\text{SOD 活性(U/g 质量)} = \text{抑制率} \div 50\% \times F \times V_{反总} \div V_{样} \times V_{样总} \div W = 20 \times \text{抑制率} \div W \times F$$

(3) 细菌或细胞 SOD 活力计算:

SOD 酶活性定义: 每 10^4 细胞在 1ml 反应液中 SOD 抑制率为 50%时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(U)。

$$\text{SOD 活性(U/10}^4 \text{ cell)} = \text{抑制率} \div 50\% \times F \times V_{反总} \div V_{样} \times V_{样总} \div N = 20 \times \text{抑制率} \div N \times F$$

注: $V_{反总}$: 反应总体积, 0.2mL; $V_{样}$: 加入反应体系中的样本体积, 0.02mL; $V_{样总}$: 样本总体积, 1ml; Cpr : 蛋白样本浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; N : 细胞或细菌总数, 以万计; F : 样本稀释倍数。

注意事项:

1. 样本和试剂 B 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 A、试剂 B 工作液、试剂 C、蒸馏水), 试剂 D 工作液必须最后加入。