

超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (微量法)

货号：PMK1036

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）等液体样本

产品简介

超氧化物歧化酶 (SOD, EC1.15.1.1) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 是催化超氧阴离子歧化成 O_2 和 H_2O_2 的酶。SOD 不仅是超氧化物阴离子清除酶, 也是 H_2O_2 主要生成酶, 它们是抗暴露于 O_2 的所有细胞中超氧化物自由基毒性的重要抗氧化剂。异常的 SOD 活动与肌萎缩侧索硬化, 围产期致死, 神经紊乱和癌症等疾病有关。超氧化物歧化酶有三大类: Cu/Zn, Fe/Mn 和 Ni 型。人体中存在三种形式的超氧化物歧化酶。SOD1 位于细胞质中, SOD2 位于线粒体中, SOD3 位于细胞外。本试剂盒提供一种简单易用的测定法, 用于定量测定血清, 血浆, 组织/细胞和其它生物体液中的 SOD 酶活性。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^- 与四唑盐 WST-8 反应生成水溶性甲瓚, 后者在 450nm 处有吸收; SOD 可清除 O_2^- , 从而抑制了甲瓚的形成, 因此产生更少的显色反应。用比色法测定了 SOD 在 450nm 处的抑制活性。SOD 的活性与甲瓚的生成量成负相关。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
提取液	50mL	100mL	4℃
反应缓冲液	10mL	20mL	4℃
试剂一	300 μL	600 μL	4℃, 避光保存
试剂二	60 μL	120 μL	4℃, 避光保存
试剂三	60 μL	120 μL	-20℃
试剂四	300 μL	600 μL	-20℃

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 450nm 处的吸光度)
 恒温箱、制冰机、低温离心机
 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
 去离子水
 匀浆器 (如果是组织样本)

试剂准备

注意：各组分 (小管试剂) 开盖前, 请先低速离心。

提取液：即用型；使用前预冷；4℃保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；整个实验过程中，冰上避光放置；4℃避光保存。

试剂二：即用型；整个实验过程中，冰上避光放置；4℃避光保存。

试剂三：使用时，用反应缓冲液进行 1:20 稀释，整个实验过程中，冰上避光放置。现用现配，用多少配多少；保存于-20℃。

产品说明书

试剂四：即用型；整个实验过程中，冰上避光放置；分装保存于-20℃。如果该组分出现浑浊，使用前请短暂涡旋。

工作液：临用前配制；每孔准备 85μL 工作液，现配现用，吸取 74μL 反应缓冲液，5μL 试剂四, 5μL 试剂一, 1μL 试剂二，混匀后待用。

样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 预冷的提取液，冰浴匀浆，12,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清、血浆等液体样本：根据预实验确定的实验条件进行测定。

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 450nm，可见光分光光度计去离子水调零。

2. 将工作液 25℃ 孵育 15min。

3. 操作表（下述操作在 96 孔板或微量玻璃比色皿中操作）：

试剂（μL）	样本孔	样本对照孔	空白孔	空白对照孔
样本	20	20	0	0
工作液	80	80	80	80
稀释后的试剂三	20	0	20	0
提取液	0	20	20	40

4. 混匀后，25℃ 避光孵育 30min 后，测定 450nm 处吸光度。计算 $\Delta A_{\text{样本}} = A_{\text{样本}} - A_{\text{样本对照}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}}$ 。

注意：空白孔和空白对照孔只需各做 1 孔；每个样本需要各设置一个样本对照孔。

正式测定前务必选择 1-2 个样本做预实验，若出现 $\Delta A_{\text{样本}}$ 大于 $\Delta A_{\text{空白}}$ ，可能是样本中干扰物的影响太大，可以将样本上清用提取液稀释 10-50 倍后再测，计算公式中乘以相应稀释倍数。

结果计算

1. 抑制百分率的计算

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

注意：尽量使样本的抑制百分率小于 90%，如果计算出来的抑制百分率大于 90%，需将样本用提取液适当稀释再测，计算公式中乘以相应稀释倍数。

2. SOD 酶活性计算：

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 (U/mL)。

(1) 血清（浆）SOD 活力计算：

SOD 活性 (U/mL) = $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反应}}] \div V_{\text{样}} \times n = 6 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times n$

(2) 组织和细胞 SOD 活力计算：

a. 按样本蛋白浓度计算

SOD 活性 (U/mg prot) = $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反应}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times n = 6 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div C_{\text{pr}} \times n$

b. 按样本鲜重计算

SOD 活性 (U/g 鲜重) = $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反应}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{反应}}) \times n = 6 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times n$

c. 按细胞数量计算

SOD 活性 (U/10⁴ cells) = $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反应}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{反应}}) \times n = 0.012 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times n$

产品说明书

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.12mL; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, 0.02mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; n : 样本稀释倍数; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本鲜重, g; 500: 细胞总数, 500 万。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

PMK1038 过氧化物酶 (POD) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1037 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1039 过氧化氢 (H₂O₂) 检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解, 请关注公众号: