

# 超氧化物歧化酶（SOD）检测试剂盒（分光法）

货号：PMK1036BKS

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：25 管/12S 50 管/24S

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 反应生成水溶性甲贖，后者在 450nm 处有吸收；SOD 可清除  $O_2^-$ ，从而抑制了甲贖的形成，因此产生更少的显色反应。用比色法定了 SOD 在 450nm 处的抑制活性。SOD 的活性与甲贖的生成量成负相关。

## 产品内容

| 试剂盒组分 | 规格     |       | 储存条件   |
|-------|--------|-------|--------|
|       | 25 管   | 50 管  |        |
| 提取液   | 30mL   | 60mL  | 4℃     |
| 反应缓冲液 | 25mL   | 50mL  | 4℃     |
| 显色物   | 1.5mL  | 3mL   | 4℃避光保存 |
| 酶制剂   | 0.15mL | 0.3mL | -20℃   |
| 底物    | 1.5mL  | 3mL   | -20℃   |

## 自备耗材

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

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。

显色物：即用型；整个实验过程中，冰上避光放置；4℃避光保存。

酶制剂：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℃。

底物：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 850  $\mu$ L 工作液（比实际需要的略多），现配现用，吸取 750  $\mu$ L 反应缓冲液，50  $\mu$ L 底物，50  $\mu$ L 显色物，混匀后待用。

## 产品说明书

### 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. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 450nm，去离子水调零。
2. 将工作液 37℃ 孵育 15min。
3. 操作表（下述操作在比色皿中操作）：

| 试剂（ $\mu\text{L}$ ） | 样本  | 样本对照 | 空白   | 空白对照 |
|---------------------|-----|------|------|------|
| 样本                  | 200 | 200  | 0    | 0    |
| 工作液                 | 800 | 800  | 800  | 800  |
| 稀释后的酶制剂             | 200 | 0    | 200  | 0    |
| 去离子水                | 800 | 1000 | 1000 | 1200 |

混匀后，37℃ 避光孵育 30min 后，测定 450nm 处吸光度。计算  $\Delta A_{\text{样本}} = A_{\text{样本}} - A_{\text{样本对照}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}}$ 。

该反应体系是按照常规的容量 3mL 左右的比色皿设计的，如果比色皿最适合的加样体积不是 2mL 左右，可以根据实际需要的体积按比例调整。

**注意：空白和空白对照只需各做 1 次；每个样本需要各设置一个样本对照。**

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  $\Delta A_{\text{空白}}$  且样本对照值异常高，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 2-50 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) =  $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反应}}] \div V_{\text{样}} \times n = 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times n$

##### (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) =  $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反应}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times n = 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div C_{\text{pr}} \times n$

###### b. 按样本鲜重计算

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

###### c. 按细胞数量计算

SOD 活性 (U/ $10^4$  cells) =  $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反应}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 0.02 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times n$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，2mL； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.2mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； $n$ ：样本稀释倍数； $C_{\text{pr}}$ ：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

## 产品说明书

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：

PMK1040BKS 丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (分光法)

PMK1037BKS 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (分光法)

PMK1051BKS 总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒 (分光法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

