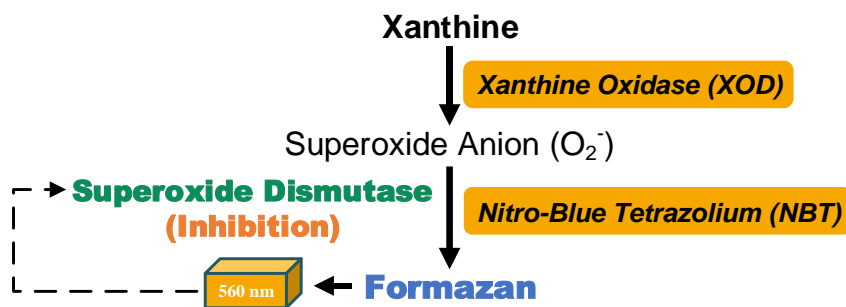




超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒
Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒

Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit

一、产品描述

超氧化物歧化酶 (SOD) 是一种广泛存在于生物体内的金属酶, 作为重要的氧自由基清除剂, 能够催化超氧化物阴离子发生歧化反应, 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。

黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统能够产生超氧阴离子 (O_2^-), O_2^- 可还原氮蓝四唑生成甲贖, 产物在 560 nm 处具有特征吸收峰; SOD 可清除 O_2^- , 从而抑制甲贖的形成, 反应液颜色越深, 表明 SOD 活性愈低, 反之活性越高, 通过吸光值变化即可表征超氧化物歧化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 80 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 50 μ L×1 支	4°C 避光保存	使用前先离心收集再吹打混匀后使用
试剂三	液体 6 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂四	粉剂×1 支	4°C 保存	-
试剂五	液体 2 mL×1 瓶	4°C 避光保存	使用前将试剂四加入试剂五中充分溶解 (配制后 4°C 可保存 1 个月)

注: 试剂五配制时建议吸取 1 mL 试剂五加入试剂四中, 充分振荡至完全溶解后, 再转移至试剂五中即可。

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①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 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 (10^4 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 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 200 W, 超声 3 s, 间隔 10 s, 重复 30 次), 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或使用提取液适当稀释后再进行检测。

2. 测定步骤

- ① 酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 560 nm。
- ② 试剂二应用液的制备（现用现配）：使用前根据使用量按试剂二：提取液=1:19 的体积比配制。
- ③ 试剂五应用液的制备（现用现配）：使用前根据使用量按试剂五：蒸馏水=1:4 的体积比配制。
- ④ 试验前将试剂一、试剂三和试剂五应用液置于 25°C 预热 5 min 以上。
- ⑤ 在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)	空白组 1 (μL)	空白组 2 (μL)
粗酶液	20	20	-	-
试剂一	90	90	90	90
试剂二应用液	10	-	10	-
蒸馏水	-	10	20	30
试剂三	40	40	40	40
试剂五应用液	40	40	40	40

充分混匀，25°C 准确反应 30 min

吸光值测定：测定 560 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 空 1、A 空 2；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空 1}} - A_{\text{空 2}}$ 。注：每个样本均需设一个对照组，空白组 1 和空白组 2 只需测定 1-2 次。

3. 超氧化物歧化酶（SOD）活性计算

3.1 抑制百分率的计算

$$\text{抑制百分率} = \frac{\Delta A_{\text{空白}} - \Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

注：抑制百分率应控制在 30-70% 范围内，越靠近 50% 越准确；若抑制百分率小于 30% 或大于 70%，则需要调整后重新测定：若抑制百分率大于 70%，建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定；若抑制百分率低于 30%，建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改。

3.2 SOD 酶活性单位定义

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。

3.3 SOD 酶活性计算公式

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{SOD (U/mg prot)} = \frac{\text{抑制百分率} \times V_{\text{反总}} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}} = \frac{10 \times \text{抑制百分率} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{SOD (U/g)} = \frac{\text{抑制百分率} \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times W \times V_{\text{样}}} = \frac{10 \times \text{抑制百分率} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times W}$$

③按细菌或细胞数量计算

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

④按液体样本体积计算

$$\text{SOD (U/mL)} = \frac{\text{抑制百分率} \times V_{\text{反总}} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{样}}} = \frac{10 \times \text{抑制百分率} \times D}{(1 - \text{抑制百分率})}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 反总：反应体系总体积，0.2 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；500：细胞或细菌数量，以万计；D：粗酶液稀释倍数，若粗酶液未进行稀释则为 1。

四、注意事项

- ①粗酶液和试剂二应用液在测定过程中应置于冰上放置，以免造成变性或失活；
- ②若测定样本较多时，可将试剂一、试剂二应用液和试剂三按表格中比例配制作作为检测工作液，试剂五应用液必须最后加入；
- ③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

