

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒 (WST-1法) (可见分光光度法)

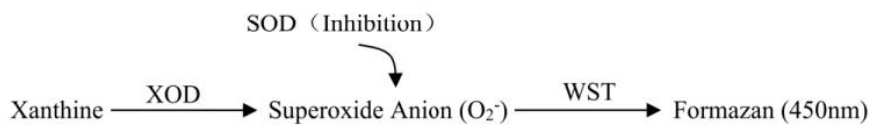
产品货号: BA2104

产品规格: 50T/24S

产品简介:

SOD(EC1.15.1.1)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 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。

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^- 可与WST-1反应生成水溶性黄色甲贲,后者在450nm处有吸收峰;SOD可清除 O_2^- ,从而抑制了甲贲的形成:反应液黄色越深,说明SOD活性愈低,反之活性越高。



注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体40μL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体11mL×1支	2-8℃
试剂四	液体0.3mL×1支	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂二: 使用前先使用掌上离心机离心至管底再吹打混匀;
2. 试剂二工作液: 根据样本数量按试剂二: 蒸馏水=5μL: 395μL(共400μL, 约4S)的比例配制试剂二工作液, 现用现配;
3. 试剂四工作液: 根据样本量按试剂四: 蒸馏水=20μL:180μL(共200μL, 约4T)的比例配制试剂四工作液, 现用现配。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、电子天平、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一、 样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1. 细菌或培养细胞样本: 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(10^4 个): 提取液体积(mL)=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 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 组织样本: 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。
3. 血清(浆)样本: 直接检测, 若有浑浊可离心后取上清进行测定。

注: 该试剂盒的样本匀浆上清也可用于过氧化物酶、丙二醛、过氧化氢酶、乳酸脱氢酶的测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 450nm，蒸馏水调零。
2. 测定前将试剂一、试剂三和试剂四工作液 37°C 水浴 5min 以上。
3. 加样表(在 EP 管中加入下列试剂)

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管 1	空白管 2
样本	90	90	-	-
试剂一	225	225	225	225
试剂二工作液	100	-	100	-
试剂三	175	175	175	175
蒸馏水	360	460	450	550
试剂四工作液	50	50	50	50

充分混匀，37°C 水浴 30min 后，置于 1mL 玻璃比色皿测定 450nm 下的吸光度。分别记为 A 测定、A 对照、A1 空白、A2 空白，计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 空白=A1 空白-A2 空白。(空白管 1 和空白管 2 各只需做 1~2 管；每个样本有一个对照管)

三、SOD 活性计算

1. 抑制百分率的计算

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

尽量使样本的抑制百分率在 30-70% 范围内，越靠近 50% 越准确。如果计算出来的抑制百分率小于 30% 或大于 70%，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，则需适当稀释样本；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或者提高加样表中的样本量，但需相应减少测定管和对照管中蒸馏水的体积。

2. 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。

3. SOD 酶活性计算：

$$\begin{aligned} \text{(1) 血清(浆)SOD 活性(U/mL)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V \text{ 反总}] \div V \text{ 样} \times F \\ &= 11.11 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times F \end{aligned}$$

(2) 组织、细菌或培养细胞 SOD 活力计算：

a. 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性(U/mgprot)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V \text{ 反总}] \div (V \text{ 样} \times \text{Cpr}) \times F \\ &= 11.11 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div \text{Cpr} \times F \end{aligned}$$

b. 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性(U/g 质量)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V \text{ 反总}] \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \times F \\ &= 11.11 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times F \end{aligned}$$

c. 按细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{SOD 活力(U/10}^4\text{cell)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V \text{ 反总}] \div (N \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \times F \\ &= 11.11 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div N \times F \end{aligned}$$

V 反总：反应总体积，1mL；V 样：加入反应体系中的样本体积，0.09mL；V 样总：加入提取液体积 1mL；

Cpr：蛋白样本浓度，mg/mL；W：样本质量，8；N：细胞或细菌总数，以 10^4 计；F：样本稀释倍数。

注意事项：

1. 样本和试剂二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(包含试剂一、(试剂二工作液)、试剂三、蒸馏水)，试剂四工作液必须最后加入。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com