

超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒

Superoxide dismutase Assay Kit

分光光度法

货号: AK060

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK060-A	60mL×1	4℃保存;
AK060-B	5mL×1	4℃保存;
AK060-C	30mL×1	4℃保存;
AK060-D	100uL×1	-20℃保存;
AK060-E	100mL×1	4℃避光保存;
AK060-F	100mL×1	4℃避光保存。

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(O^{2·-}), O^{2·-}可还原羟胺生成亚硝酸盐, 在显色剂的作用下呈现紫红色, 在 550nm 处有吸收; SOD 可清除 O^{2·-}, 从而减少亚硝酸盐的形成; 反应液颜色越深, 说明 SOD 活性愈低, 反之活性越高。

自备用品:

可见分光光度计、离心机、可调式移液器、水浴锅、研钵、冰、蒸馏水。

试剂配制:

AK060-D 应用液: 用时按 AK060-D: AK060-A=1:60 比例配制, 按量配制。

样本处理:

1. 血清(浆)、细胞培养液等液体样品: 直接检测
2. 组织样品的制备:
动物组织: 按照组织质量(g): 生理盐水(mL)为 1: 9 的比例加入 9 倍体积的匀浆介质, 冰浴条件下制备成匀浆液, 2500-3000 转/分钟, 离心 10min, 取上清待测。
植物组织: 按照组织质量(g): 0.1mol/L PBS (ml) 为 1:4 的比例加入 4 倍体积的匀浆介质, 冰浴条件下制备成匀浆液, 3500-4000 转/分钟, 离心 10min, 取上清待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 550nm。
2. 在 EP 管中依次加入下列试剂:

试剂名称	测定管 (ml)	对照管 (mL)
AK060-A	1.0	1.0
样本	0.01	
蒸馏水		0.01
AK060-B	0.1	0.1
AK060-C	0.6	0.6
AK060-D 应用液	0.1	0.1

充分混匀，置 37℃水浴 30min		
AK060-E	2	2
AK060-F	2	2
充分混匀，室温放置 15min，于 550 nm 处测定各管吸光值 A		

SOD 酶活力计算：

1. 抑制率的计算：

$$\text{抑制率} = (A \text{ 对照管} - A \text{ 测定管}) \div A \text{ 对照管}$$

尽量使样本的抑制率在 0.15-0.60 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）、细胞培养液等液体样品 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)。

$$\text{SOD 活性(U/mL)} = \text{抑制率} \div 50\% \times \text{样本稀释倍数} \times \text{反应体系总体积} \div \text{样本检测量}$$

(2) 组织 SOD 活力计算：

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)。

$$\text{SOD 活性(U/mg)} = \text{抑制率} \div 50\% \times \text{反应体系总体积} \div \text{样本检测量} \div \text{样本蛋白浓度 (mg/ml)}$$