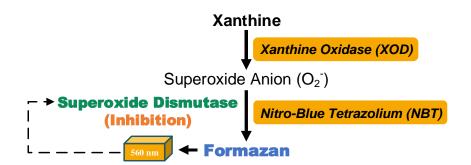
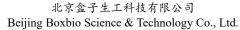


超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒(NBT 法) Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit (NBT Method)

























Catalog Number **AKAO001-1C-25S** Storage Temperature **2-8°C** Size **60T/25S**

Visible Spectrophotometry

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒 (NBT 法)

Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit(NBT Method)

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臜,产物在 560 nm 处具有特征吸收峰; SOD 可清除 O_2^- ,从而抑制甲臜的形成,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 50 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 35 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体 60 μL×1 支	4℃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 15 mL×1 瓶	4℃避光保存	•
试剂四	粉剂×1 支	4℃保存	•
试剂五	液体 2 mL×1 瓶	4℃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:可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿(光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、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0.1g组织,加入1 mL提取液)处理样品,冰浴匀浆,4℃8000g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(10⁴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1mL 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分光光度计预热 30 min 以上,调节波长至 560 nm,蒸馏水调零。
- 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=1:7 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=1:9 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℃预热 5 min 以上。
- ⑤在离心管中依次加入下列试剂:

 试剂	测定管	对照管	空白管1	空白管 2
ω()/lγ 	(µL)	(μL)	(μL)	(μL)
粗酶液	90	90	-	-
试剂一	500	500	500	500
试剂二应用液	10	-	10	-
蒸馏水	-	10	90	100
试剂三	200	200	200	200
试剂五应用液	200	200	200	200

充分混匀, 25℃准确反应 30 min

吸光值测定:将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中,测定 560 nm 处吸光值,记为 A 测定、A 对照、 A 空 1、A 空 2; 计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照, ΔA 空白=A 空 1-A 空 2。注:每个样本均需设一个对照管,空白管 1 和空白管 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

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

②按组织样本质量计算

SOD (U/g) =
$$\frac{$$
抑制百分率×V 反总×V 样总×D}{(1-抑制百分率)×W×V 样} = $\frac{11.1×抑制百分率×D}{(1-抑制百分率)×W}$

③按细菌或细胞数量计算

SOD (U/10⁴ cell) =
$$\frac{$$
抑制百分率×V 反总×V 样总×D}{(1-抑制百分率)×500×V 样} = $\frac{0.022×抑制百分率×D}{(1-抑制百分率)}$

④按液体样本体积计算

SOD (U/mL) =
$$\frac{\text{μh G } \beta \text{\timesV } \text{\triangle \timesD}}{(1-\text{μh G } \beta \text{\approx}) \text{\timesV } \text{\notI}} = \frac{11.1 \times \text{μh G } \beta \text{\approx} \times \text{D}}{(1-\text{μh G } \beta \text{\approx})}$$

注释: V样: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.09 mL; V 反总: 反应体系总体积, 1 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.

















