

Superoxide Dismutase Activity Assay Kit

超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒(WST-8 法) 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1483A	超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒(WST-8 法) 分光法	48T

产品简介:

超氧化物歧化酶(SOD)(EC 1.15.1.1)在动植物、微生物和培养细胞体内广泛存在,其具有抗衰老、提高机体对多种疾病的抵抗力,能增强机体对外界环境的适应力,是生物体内一种重要的抗氧化酶。

目前有多种 SOD 活性测定法,其中 NBT(氮蓝四唑)法产生的甲臍染料水溶性差,易和被还原的黄嘌呤氧化酶相互作用,抑制百分率达不到 100%等,从而使检测的灵敏度和精确度受到影响;本试剂盒采用的是目前稳定性更好、灵敏度更高的 WST-8 法,WST-8 可以和黄嘌呤氧化酶(Xanthine Oxidase, XO)催化产生的超氧化物阴离子(O_2^-)反应产生水溶性的甲臍染料,后者在 450nm 处有最大吸收;SOD 可清除 O_2^- ,从而抑制甲臍的形成;反应液颜色越深,说明 SOD 活性愈低,反之活性越高。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 16mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二	液体×3 支	4°C 保存	临用前离心或甩几下使试剂落入底部,每支再分别加 1.1mL 蒸馏水充分溶解,-20°C 保存。
试剂三	液体 1.5mL×1 支	4°C 保存	
试剂四	粉末×5 支	4°C 保存	临用前甩几下,使粉末落到底部,每支加 0.1mL 试剂五振荡或超声溶解后,再加 3.9mL 蒸馏水混匀使用(务必加 0.1mL 试剂五溶解后再加水),一周内用完。
试剂五	液体 1mL×1 支	4°C 保存	

使用方法:

建议正式实验前,选取 2 个样本做预测定,了解实验样品情况,熟悉流程,避免样本和试剂浪费。

一、样本准备

1. 组织样本准备:

- (a) 称取约 0.1g 组织(水分充足的样本可取 0.25g),加入 1mL 提取液,进行冰浴匀浆;
- (b) 12000rpm 4°C 离心 10min 后取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本准备:

- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;
- (b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率 200W,超

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次) ;

(c) 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本准备:

液体样本: 澄清的液体样本直接测定, 若浑浊则离心后取上清检测。

二、样品测定

1. 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 450nm, 蒸馏水调零。
2. 测定前将试剂一、三和四 25°C水浴 5min 以上。
3. 用排枪操作, 以减小各孔间因加入试剂时间先后导致的误差。
4. 在 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中依次加入:

试剂名称 (μL)	样本管	样本对照管* (可选做)	空白管 1 (仅做一次)	空白管 2 (仅做一次)
试剂一	280	280	280	280
试剂二	60	-	60	-
蒸馏水	-	60	60	120
样本	60	60	-	-
试剂三	30	30	30	30
试剂四	320	320	320	320
充分混匀, 室温 (25°C) 避光静置 30min (准确时间) 后, 于 450nm 处测定各管吸光值 A。				

- 【注】1 若样本量较多, 测定前可将试剂一、三和四按照 280μL:30μL:320μL 比例混成一个混合液 (需依据当次检测的样本数量混合对应的试剂量), 每孔务必最后一步加 630μL 该混合液。
- 2 样本对照管*: 提取后样本颜色较深: 如棕褐色或黄色, 或 A 对照管值>0.1, 可做此管, 否则抑制率偏低, 即 SOD 活性偏低。若为相同样本可做一组样本对照管, 若每个样本都做对照管则该试剂盒由原来可测 48 样变为 24 样。
- 3 若样本管数值过低, 可能是: ①试剂二或试剂四没有现配现用; ②没有按顺序加试剂; ③反应温度需室温 (25°C)。

三、结果计算

1. 抑制百分率的计算:

$$\text{抑制百分率} = \frac{(A_{\text{空白管1}} - A_{\text{空白管2}}) - (A_{\text{样本管}} - A_{\text{样本对照管*}})}{(A_{\text{空白管1}} - A_{\text{空白管2}})} \times 100\%$$

若没有做 A_{样本对照管} 则值为 0 代入公式计算抑制百分率; 控制抑制百分率在 30-80%范围内。

- 【注】1 若小于 30%, 可增加取样质量 W (如增至 0.2g), 或增加样本加样体积 V1 (如由 60μL 增至 120μL 或更多, 则试剂一相应减少, 保持总体积不变);
- 2 若大于 80%, 则需将样本粗提液用蒸馏水或提取液适当稀释。则改变后的 W 和 V1 和稀释倍数 D 代入公式计算。

2. SOD 酶活性计算:

SOD 酶活单位: 在上述黄嘌呤氧化酶耦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)。

a. 按样本鲜重计算:

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性(U/g 鲜重)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_2] \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 12.5 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times D \end{aligned}$$

b. 按样本蛋白浓度计算:

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



$$\text{SOD 活性(U/mg prot)} = [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V2] \div (V1 \times \text{Cpr}) \times D \\ = 12.5 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div \text{Cpr} \times D$$

c. 按细胞数量计算:

$$\text{SOD 活力(U/10}^4 \text{ cell)} = [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V2] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ = 0.025 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times D$$

d. 按液体体积计算:

$$\text{SOD 活性(U/mL)} = [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V2] \div V1 \times D \\ = 12.5 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times D$$

V---样本提取液的总体积, 1 mL

V1---加入反应体系样本体积, 0.06mL

V2---反应体系总体积, 0.75mL

D---样本稀释倍数, 未稀释即为 1

W---样本取样质量, g

500---细胞数量, 万

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

4°C保存六个月。

