

کیت اندازه گیری فعالیت SOD

SOD Activity Assay Kit Catalog Nos. KPG-SOD

آنزیم SOD (سوپراکسید دیسموتاز) یک آنزیم آنتی اکسیدانی است که نقش مهمی در محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد ایفا می‌کند. این آنزیم واکنش تجزیه رادیکال سوپراکسید (O_2^-) را کاتالیز می‌کند و آن را به مولکول‌های اکسیژن و پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند که سمیت کمتری دارند. محلول B موجود در کیت کارمانیا پارس ژن در محیط بافری محلول A با ایجاد واکنش با سوپراکسید (O_2^-) تغییر رنگ داده و در طول موج ۴۲۰ نانومتر خوانش دارد. آنزیم SOD موجود در نمونه با تجزیه سوپراکسید (O_2^-) واکنش محلول B با سوپراکسید (O_2^-) را مختل کرده منجر به کاهش رنگ می‌شود. بنابراین فعالیت این آنزیم رابطه مستقیمی با کاهش رنگ دارد.

➤ محتویات کیت:

بافر رقیق کننده نمونه (Sample Reagent) (CN. KPG-PB7)

محلول A (SOD Solution A) (CN. KPG-SODA)

محلول B (SOD Solution B) (CN. KPG-SODB): ۲ عدد

محلول C (SOD Solution C) (CN. KPG-SODC)

برای ماندگاری بیشتر کیت تمامی محتویات را در مکان تاریک نگهداری کنید.

موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست:

۱. سمپلر و سر سمپلر، ۲. سانتیفریوژ، ۳. الایزا ریدر حاوی طول موج ۴۲۰ نانومتر

آماده سازی محلول ها:

➤ برای آماده سازی محلول B در کیت ۹۶ تستی به میزان ۲/۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی ۱/۲۵ میلی لیتر) از محلول C را به محلول B اضافه نمایید و خوب مخلوط کنید. مطمئن شوید که محلول B کاملاً محلول شده است. با توجه به اینکه محلول B بعد از آماده سازی، ماندگاری کمی دارد، بنابراین در دو ظرف جداگانه در کیت موجود است تا کاربر برای دو دفعه بتواند از کیت استفاده کند.

➤ محلول B تهیه شده به مدت ۷۲ ساعت، در مکان تاریک و در یخچال پایدار می باشد.

آماده سازی نمونه: اگر از سرم، پلاسما یا ادرار استفاده میکنید نیازی به رقیق سازی نمونه نیست. در مواردی که نمونه بافت می باشد، ابتدا ۵۰ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده نمونه کاملاً هموزن کرده (این عمل در دمای سرد انجام شود، به طور مثال بافر رقیق کننده را با انکوبه یک ساعته در یخچال سرد کنید) و سپس در دور RPM ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتیفریوژ کرده و در نهایت مایع رویی را برای انجام تست استفاده کنید. از نمونه سوپرناتانت کشت سلول به دلیل داشتن معرف های رنگی حساس به Ph استفاده نکنید بلکه نمونه سلول را بایستی ابتدا از محیط جمع آوری کرد سپس با PBS شستشو داد و سپس در بافر رپا مخصوص تست های استرس اکسیداتیو (میتوانید از کارمانیا پارس ژن تهیه کنید) با دستگاه سونیکاتور کاملاً لیز کرده و لیزات سلول را سانتیفریوژ کرده و از سوپرناتانت برای تست استفاده کنید. دقت نمایید، در صورتیکه دستگاه سونیکاتور ندارید، نمونه سلول غوطه ور شده در بافر رپا را به تعداد ۱۰ مرتبه فریز و ذوب کنید و در هر بار به شدت مخلوط کنید.

روش انجام تست:

۱. قبل از شروع آزمایش، اجزای کیت را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه دارید.
۲. به تعداد نمونه ها به میزان ۲۰۰ میکرولیتر از محلول A به چاهک های پلیت الایزا اضافه کنید و یک چاهک را نیز به عنوان استاندارد در نظر گرفته و به آن به میزان ۲۱۰ میکرولیتر از محلول A اضافه کنید.
۳. به میزان ۱۰ میکرولیتر از نمونه را به چاهک های مربوطه به نمونه اضافه نمایید و بعد از مخلوط کردن بلافاصله جذب تمامی چاهک ها را در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه گیری کنید. این جذب را با نام A1 ذخیره کنید.

۴. ۵۰ میکرولیتر از محلول B را به تمامی چاهک ها اضافه کنید و به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه کنید و سپس در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه گیری کنید. این جذب را با نام A2 ذخیره کنید.

برای محاسبه فعالیت مهای SOD از فرمول زیر استفاده کنید:

$$\text{Inhibitory percent} = \left(1 - \frac{\text{Sample A2} - \text{Sample A1}}{\text{Standard A2} - \text{Standard A1}} \right) \times 100$$

برای محاسبه واحد فعالیت آنزیمی از فرمول زیر استفاده کنید:

$$\text{SOD (U/mL)} = \left(\frac{\text{Inhibitory percent}}{50} \right) \times \text{Sample dilution}$$

با توجه به اینکه رقت نمونه (Sample dilution) عدد ۲۱ (۲۱۰/۱۰) می باشد و با توجه به اینکه تقسیم عدد ۲۱ بر ۵۰ عدد ۰/۴۲ می باشد، بنابراین می توان از فرمول زیر استفاده کرد:

$$\text{SOD Activity (U/ml)} = \text{Inhibitory percent} \times 0.42$$

برای سهولت محاسبه داده ها، فایل ایکسل طراحی شده توسط کمپانی KPG را از بارکد زیر دانلود کنید:



دقت نمایید در صورتیکه در نمونه شما هیچگونه رنگی مشاهده نشد و یا خیلی کم بود به دلیل فعالیت زیاد آنزیم در نمونه شما می باشد و بنابراین باید نمونه را با بافر رقیق کننده رقیق نمایید (به طور مثال ۱۰ میکرولیتر نمونه با ۲۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده). از طرفی میزان جذب (OD) در استاندارد بایستی عددی بین ۰/۸ تا ۱/۳ به دست بیاید.

دقت داشته باشید برای نرمالایز کردن داده ها باید میزان توتال پروتئین (µg/mL) را هم اندازه گیری کنید و نتایج به دست آمده از SOD را بر توتال پروتئین تقسیم کرده و داده ها را به صورت U/µg گزارش کنید. پیشنهاد ما استفاده از کیت اندازه گیری توتال پروتئین کارمانیا پارس ژن است.

دستورالعمل های ایمنی: محلول های مورد استفاده در این کیت برای بافت انسان خطرناک هستند، از این رو، در موارد تماس با پوست، چشم و غیره، با آب شسته و برای درمان اضافی به بیمارستان مراجعه کنید.

کیت های مشابه در حیطه اکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها تولیدی کارمانیا پارس ژن:

۱. کیت اندازه گیری فعالیت تام آنتی اکسیدانی (FRAP)
۲. کیت اندازه گیری فعالیت کاتالاز
۳. کیت اندازه گیری فعالیت MDA
۴. کیت اندازه گیری میزان NO
۵. کیت اندازه گیری فعالیت پاراکسوناز-۱
۶. کیت اندازه گیری میزان کربونیل پروتئین
۷. کیت اندازه گیری فعالیت استیل کولین استراز
۸. کیت اندازه گیری توتال پروتئین

کارمانیا پارس ژن تولید کننده کیت های:

۱. الایزا برای اندازه گیری سایتوکین ها
۲. استخراج DNA و RNA به روش های ستونی، رسوبی و نانوذرات مگنت
۳. اندازه گیری miRNA ها
۴. محصولات مرتبط با کشت سلول مانند FBS، محیط کشت و سلول های سرطانی و بنیادی مزانشیمال
۵. میکروتیوب ها دستگاه های Real-Time PCR
۶. ستون های تخلیص DNA و RNA
۷. محصولات یکبار مصرف آزمایشگاهی مانند یورین باتل و ...

با ما در تماس باشید

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR -۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳

karmaniaparsgene@gmail.com



SOD Activity Assay Kit

Catalog Nos. KPG-SOD

The enzyme SOD (superoxide dismutase) is an antioxidant enzyme that plays an important role in protecting cells from free radical damage. This enzyme catalyzes the decomposition reaction of the superoxide radical (O₂⁻) and converts it into glass molecules and hydrogen peroxide, which are less toxic. Solution B in the Parsgene Carmania kit changes color in the buffered solution A by reacting with superoxide (O₂⁻) and is read at a wavelength of 420 nm. The SOD enzyme in the sample disrupts the reaction of solution B with superoxide (O₂⁻) by breaking down superoxide (O₂⁻), leading to a decrease in color. Therefore, the activity of this enzyme is directly related to the decrease in color.

➤ Kit components:

1. **Sample Reagent** (CN. KPG-PB7)
2. **SOD Solution A** (CN. KPG-SODA)
3. **SOD Solution B** (CN. KPG-SODB): 2 vials
4. **SOD Solution C** (CN. KPG-SODC)

Required items that are not included in the kit:

1. Sampler and sampler head
2. Centrifuge
3. ELISA reader containing a wavelength of 420 nm

Preparation of solutions:

- To prepare solution B in the 96-test kit, add 2.5 ml (1.25 ml in the 48-test kit) of solution C to solution B and mix well. Make sure that solution B is completely dissolved. Since solution B has a short shelf life after preparation, it is available in two separate containers in the kit so that the user can use the kit twice.
- The prepared solution B is stable for 72 hours in a dark place and in the refrigerator.

Sample Preparation: If you are using serum, plasma or urine, there is no need to dilute the sample. In cases where the sample is tissue, first thoroughly homogenize 50 mg of tissue in 500 µl of sample dilution buffer (this should be done at cold temperatures, for example, cool the dilution buffer by incubating it in the refrigerator for one hour). Then centrifuge at 5000 RPM for 5 minutes and finally use the supernatant to perform the test.

Test Procedure:

1. Before starting the test, keep the kit components at room temperature for 20 minutes.
2. Add 200 µL of solution A to the wells of the ELISA plate, according to the number of samples, and consider one well as a standard and add 210 µL of solution A to it.
3. Add 10 µl of the sample to the respective wells and after mixing immediately measure the absorbance of all wells at 420 nm. Save this absorbance as A1.
4. Add 50 µl of solution B to all wells and incubate for 10 minutes and then measure at 420 nm. Save this absorbance as A2.

Use the following formula to calculate SOD inhibitory activity:

$$\text{Inhibitory percent} = \left(1 - \frac{\text{Sample A2} - \text{Sample A1}}{\text{Standard A2} - \text{Standard A1}}\right) \times 100$$

Use the following formula to calculate enzyme activity units:

$$\text{SOD (U/mL)} = \left(\frac{\text{Inhibitory percent}}{50}\right) \times \text{Sample dilution}$$

Given that the sample dilution is 21 (10/210) and given that dividing 21 by 50 is 0.42, the following formula can be used:

$$\text{SOD Activity (U/ml)} = \text{Inhibitory percent} \times 0.42$$

For easier data calculation, please download the Excel file designed by KPG Company using the barcode below:



- Be careful if no color is observed in your sample or if it is very low, it is due to high enzyme activity in your sample and therefore you should dilute the sample with dilution buffer (for example, 10 microliters of sample with 20 microliters of dilution buffer). On the other hand, the absorbance (OD) in the standard should be between 0.8 and 1.3. Do not use cell culture supernatants directly due to the presence of pH-sensitive color indicators. Instead, cells must first be harvested from the culture medium and washed with PBS. Then, completely lyse the cells using a sonicator in RIPA buffer specialized for oxidative stress assays (available from Karmania Pars Gene). Centrifuge the cell lysate and use the resulting supernatant for testing.
- Note: If a sonicator is unavailable, subject the cell sample immersed in RIPA buffer to 10 cycles of freeze-thaw, ensuring vigorous mixing/vortexing during each cycle.
- Please note that for normalizing the data, you must also measure the total protein concentration (µg/mL) and divide the obtained SOD results by the total protein, reporting the data as U/µg. We recommend using the total protein assay kit from Karmania Pars Gene.

Safety Instructions: The solutions used in this kit are hazardous to human tissue, hence, in cases of contact with skin, eyes, etc., wash with water and go to hospital for additional treatment.

Similar kits in the field of oxidants and antioxidants produced by Karmania Pars Gene:

1. Total Antioxidant Activity (FRAP) Testing Kit
2. Total Antioxidant Activity (DPPH) Testing Kit
3. Total Antioxidant Activity (ABTS) Testing Kit
4. Total Antioxidant Activity (CUPRAC) Testing Kit
5. MDA Activity Testing Kit
6. NO Level Testing Kit
7. Paraoxonase-1 Activity Testing Kit
8. Protein Carbonyl Level Testing Kit
9. SOD Activity Testing Kit
10. Acetylcholinesterase Activity
9. ...

Other products:

1. ELISA for measuring cytokines
2. DNA and RNA extraction by column, sedimentation and magnetic nanoparticles methods
3. Measurement of miRNAs
4. Products related to cell culture such as FBS, culture medium and cancer and mesenchymal stem cells
4. Microtubes Real-Time PCR devices
5. DNA and RNA purification columns

Contact us
+989132926113

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR
karmaniaparsgene@gmail.com