مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۵، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹
صفحات: ۱۳۳-۱۲۹

Kowsar Medical Journal
Vol. 15, No. 3, Fall 2010
Pages: 129-133

روش حساس کمی‌لومینسانس برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

گلنوش دهباشی بهبهانی[۱] *MSc*، رضا حاج‌حسینی[۱] *PhD*، لاله حقوقی‌راد[۲] *MSc*، مهدی هدایتی[*] *PhD*

[*]مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد مرکزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[۲]مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

اهداف: سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بیماری‌های شایعی مانند بیماریهای قلبی عروقی، سرطان و اختلالات خودایمنی اهمیت دارد. در حال حاضر سنجش فعالیت این آنزیم در زمینه‌های مختلف علمی با کیت‌های وارداتی گران‌قیمت انجام می‌شود. هدف مطالعه حاضر طراحی روش کمی لومینومتری برای سنجش فعالیت آنزیم مذکور به همراه بهبود حساسیت، دقت و سرعت سنجش بود.

مواد و روش‌ها: در این روش جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نمونه سرمی به منظور افزایش حساسیت سنجش، از واکنش سوپراکسید با سوبسترای لومینول و یدوفنول به عنوان شتاب دهنده واکنش در سنجش لومینومتری استفاده شد. حساسیت، دقت درون آزمونی و برون آزمونی، صحت با آزمون‌های بازیافت و همسانی، قیاس روش و بررسی همبستگی و توافق روش‌ها انجام شد. به منظور افزایش دقت و سرعت خواندن، سنجش در میکروپلیت اجرا و خواندن با پلیت لومینومتر صورت گرفت.

یافته‌ها: دامنه عملکرد استاندارد از ۳ تا ۳۰۰ واحد در میلی لیتر بود. حساسیت روش مورد مطالعه در حد ۰/۱ واحد در میلی لیتر محاسبه شد. درصد ضریب تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی به ترتیب کمتر از ۶/۶ و ۷/۳ بود. در این روش درصد بازیافت در آزمون‌های همسانی و بازیافت در محدوده ۹۲ تا ۱۱۰ بود. مقایسه نتایج روش مذکور با روش رایج رنگ سنجی ضریب همبستگی پیرسون را ۰/۹۱۷ نشان داد.

نتیجه‌گیری: این روش قادر به اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نمونه های سرمی با دقت و صحت قابل قبول است و احتمالا می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های رنگ‌سنجی رایج وارداتی باشد.

کلیدواژه‌ها: کمی‌لومینسانس، سوپراکسید دیسموتاز، خواندن میکروپلیت

Sensitive chemiluminescence method for Superoxide Dismutase activity assay

Dehbashi Behbahani G.[1] *MSc*, Hajhosseini R.[1] *PhD*, Hoghughirad L.[2] *MSc*, Hedayati M.* *PhD*

[*]Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences,
Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[1]Department of Biology, Faculty of Basic Science, Central Branch, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran
[2]Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences,
Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Aims: Measuring superoxide dismutase activity is of importance in common diseases like cardiovascular disease, cancer and autoimmune disorders. Nowadays measuring enzyme activity is performed with expensive imported kits in different fields of science. The aim of this study was to design a quantitative method for chemiluminometeric measurement of superoxide dismutase activity with improved sensitivity, accuracy and speed.

Materials & Methods: In this method luminol substrate and iodophenol were used as reaction accelerators in luminometry measuring reaction in order to determine the superoxide dismutase activity in serum samples and to increase measurement sensitivity. Sensitivity, precision tests, intra and inter-assay test, accuracy tests, recovery and parallelism tests, method comparison and methods' correlation and coherence investigation were also performed. In order to increase reading speed and precision, measurement was performed in microplate and reading was done in luminometry plate.

Results: Standard operating range was 3 to 300 U/ml. Sensitivity of the method was 0.1U/ml. Intra and inter-assay coefficient of variation was less than 6.6 and 7.3% respectively. In recovery and Parallelism tests, the recovery percent range was 92 to 110. Comparison of common colorimetric method and the designed method indicated a Pearson's correlation coefficient of 0.917.

Conclusion: This method can measure superoxide dismutase activity in serum samples with acceptable precision and accuracy and probably can be a good alternative for conventional colorimetric methods.

Keywords: Chemiluminescence, Superoxide Dismutase, Microplate Reading Format

---

نویسنده مسئول: مهدی هدایتی. تمام درخواست‌ها باید به نشانی hedayati@endocrine.ac.ir فرستاده شوند.

دریافت مقاله: ۸۹/۲/۱۴ پذیرش مقاله: ۸۹/۶/۱