

超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒说明书

分光光度法

货号：AM0301

产品规格 50T/48S

产品内容

使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	60 mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	15 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	粉剂×5 瓶	4°C保存，用时每支加 5.4mL 蒸馏水，充分溶解，现配现用
试剂三	350 μL×1 支	4°C保存
试剂四	10mL×1 瓶	4°C保存

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

产品简介

SOD (EC 1.15.1.1) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，催化超氧化物阴离子发生歧化作用，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。

测定原理

通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)， $O_2^{\cdot-}$ 可还原氮蓝四唑生成蓝色甲臞，后者在 560nm 处有吸收；SOD 可清除 $O_2^{\cdot-}$ ，从而抑制了甲臞的形成；反应液蓝色越深，说明 SOD 活性愈低，反之活性越高。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理

1、细菌、细胞或组织样品的制备：

细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量 (10^4 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)，超声波破碎细菌或细胞 (冰浴，功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次)；8000g 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

组织：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液)，进行冰浴匀浆。8000g 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

2、血清 (浆) 样品：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 560nm，蒸馏水调零。
2. 测定前将试剂一、三和四 37°C (哺乳动物)或 25°C (其它物种)水浴 5min 以上。
3. 样本测定(在 EP 管中依次加入下列试剂)

试剂名称(μL)	测定管	对照管
试剂一	240	240
试剂二	510	510
试剂三	6	6
样本	90	
试剂四	180	180
蒸馏水		90

充分混匀，室温静置 30min 后，加入 1mL 玻璃比色皿，560nm 处测定各管吸光值 A。

注意事项

- 1、试剂三为酶，不可冷冻，使用时在冰上放置。
- 2、对照管只需要做一管。

SOD 活性计算

1、抑制百分率的计算

抑制百分率 = $(A_{\text{对照管}} - A_{\text{测定管}}) \div A_{\text{对照管}} \times 100\%$

尽量使样本的抑制百分率在 30-70% 范围内。如果计算出来的抑制百分率小于 30% 或大于 70%，则通常需要调整加样量后重新测定。如果测定出来的抑制百分率偏高，则需将样本用提取液适当稀释；如果测定出来的抑制百分率偏低，则需重新准备浓度比较高的待测样本。

2、SOD 酶活性单位：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(U/mL)。

3、SOD 酶活性计算：

(1) 血清(浆) SOD 活性(U/mL) = $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \times \text{样本稀释倍数} = 11.4 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times \text{样本稀释倍数}$

(2) 组织、细菌或培养细胞 SOD 活力计算：

a. 按样本蛋白浓度计算

SOD 活性(U/mg prot) = $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times \text{样本稀释倍数} = 11.4 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div C_{\text{pr}} \times \text{样本稀释倍数}$

需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

b. 按样本鲜重计算

SOD 活性(U/g 鲜重) = $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times \text{样本稀释倍数} = 11.4 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times \text{样本稀释倍数}$

c. 按细菌或细胞个数计算

SOD 活力(U/10⁴ cell) = $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times \text{样本稀释倍数} = 0.0228 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times \text{样本稀释倍数}$

V 反总：反应体系总体积，1.026mL；V 样：加入反应体系中样本体积，0.09mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：

细胞或细菌总数，500 万。