

超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒说明书
可见分光光度法
AM0301

保存条件

按照产品内容保存要求保存。

产品信息

产品名称	产品货号	规格
超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒 可见分光光度法	AM0301	50 管/24 样

产品简介
测定意义：

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。

产品内容

组成	含量	保存
提取液	60mLx1 瓶	4°C
试剂一	15mLx1 瓶	4°C
试剂二	粉剂 x5 瓶	4°C 用时每支加 5.4mL 蒸馏水，充分溶解，现配现用
试剂三	350 μ L×1 支	4°C
试剂四	10mLx1 瓶	4°C

使用方法

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

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、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取：

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（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），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℃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℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2、血清（浆）样品：直接检测。

测定步骤：

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 560nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂一、二和四 37℃（哺乳动物）25℃（其他物种）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 对照管-A 测定管)÷A 对照管×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)。

3、SOD 酶活性计算：

(1) 血清(浆) SOD 活性(U/mL)=[抑制百分率÷(1-抑制百分率)×V 反总]÷V 样×样本稀释倍数=11.4×抑制百分率÷(1-抑制百分率)×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)=[抑制百分率÷(1-抑制百分率)×V 反总]÷(V 样×Cpr)×样本稀释倍数=11.4×抑制百分率÷(1-抑制百分率)÷Cpr×样本稀释倍数

b.按样本鲜重计算

SOD 活性(U/g 鲜重)=[抑制百分率÷(1-抑制百分率)×V 反总]÷(W×V 样÷V 样总)×样本稀释倍数=11.4×抑制百分率÷(1-抑制百分率)÷W×样本稀释倍数

c.按细菌或细胞个数计算

SOD 活力(U/10⁴ cell)=[抑制百分率÷(1-抑制百分率)×V 反总]÷(500×V 样÷V 样总)×样本稀释倍数=0.0228×抑制百分率÷(1-抑制百分率)×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。