

## 超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1068

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

SOD（EC 1.15.1.1）是一种广泛存在于生物体内的金属酶，是重要的氧自由基清除剂，能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。

通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子( $O_2^-$ )， $O_2^-$ 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 $O_2^-$ ，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：

提取液：液体100mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体5mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体100 $\mu$ L×1支，4℃保存；使用前先离心再吹打混匀。

试剂三：液体4mL×1瓶，4℃保存。

试剂四：粉剂×1支，4℃保存。（由于试剂量极少，容易产生误差，现规格为0.0003g/支，使用时称取0.0003g即可。）

试剂五：液体2mL×1瓶，4℃保存；临用前将试剂四加入试剂五中，并震荡溶解。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样品的前处理：

##### (1) 细菌、细胞或组织样品的制备：

细胞、细菌样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清，按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎（功率20%或200w，超声3s，间隔10s，重复30次）。8000g 4℃离心10分钟，取上清，置冰上待测。

组织样本：称取约0.1g组织，加入1mL提取液进行冰浴匀浆；8000g 4℃离心10分钟，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、三和五37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴5min以上。
- 3、样本测定（按顺序加入下列试剂）

试剂名称（ $\mu$ L）	测定管	对照管	空白管1	空白管2
样本	18	18	-	-
试剂一	45	45	45	45
试剂二	2	-	2	-
试剂三	35	35	35	35



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q：807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

蒸馏水	90	92	108	110
试剂五	10	10	10	10

充分混匀，37℃水浴30min后，560nm处测定各管吸光值A。计算 $\Delta A$ 测定=A测定-A对照， $\Delta A$ 空白=A空1-A空2。如底部有沉淀，混匀后再行测定。

**注意：**

- 1、样本和试剂二使用时在冰上放置。
- 2、样本较多时，可按表格配置工作液（包含试剂一、二、三），试剂五必须最后加入。
- 3、空白管1和空白管2各只需做1~2管；每个样本有一个对照管。
- 4、反应完成后，可能有沉淀生成，混匀后测定即可。

**三、SOD 活性计算：**

1、抑制百分率的计算

$$\text{抑制百分率} = (\Delta A_{\text{空白}} - \Delta A_{\text{测定}}) \div \Delta A_{\text{空白}} \times 100\%$$

尽量使样品的抑制百分率在30-70%范围内，越靠近50%越准确。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，则需适当稀释样品；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品。

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。

3、SOD酶活性计算：

$$\begin{aligned} \text{(1) 血清(浆) SOD活性(U/mL)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \times F \\ &= 11.11 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times F \end{aligned}$$

(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

$$\begin{aligned} \text{SOD活性 (U/mg prot)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times F \\ &= 11.11 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div C_{\text{pr}} \times F \end{aligned}$$

B 按样本鲜重计算

$$\begin{aligned} \text{SOD活性 (U/g 鲜重)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times F \\ &= 11.11 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times F \end{aligned}$$

C 按细菌或细胞个数计算

$$\begin{aligned} \text{SOD =活力 (U/10}^4 \text{ cell)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times F \\ &= 0.022 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times F \end{aligned}$$

V反总：反应体系总体积，0.2mL；V样：加入反应体系中样本的体积，0.018mL；V样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g；500：细胞或细菌总数，500万，F：样本稀释倍数。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com