

超氧化物歧化酶（SOD）活性测定试剂盒

(货号：RBC0017 微板法 120T/48S)

一、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。

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^- 可与 WST-8 反应产生水溶性染料甲臃，后者在 450nm 处有吸收；SOD 可清除 O_2^- ，从而抑制了甲臃的形成；反应液黄色越深，说明 SOD 活性愈低，反之活性越高。

二、试剂盒组分与配制

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 1.2ml×1 支	-20°C保存	建议分装保存， 避免反复冻融
试剂三	液体 1.2ml×2 支	4°C避光保存	
试剂四	液体 1.2ml×2 支	4°C避光保存	

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、台式离心机、恒温水浴锅、可调式移液器、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

四、超氧化物歧化酶（SOD）的测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备

① 组织样本：

取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.25g），加入 1mL 提取液，在 4°C 或冰浴进行匀浆。
4°C×8000g 离心 10min，取上清作为待测液。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；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 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。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（ 10^4 ）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 血清（浆）样品：直接检测。

2、上机检测



- ① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm。
- ② 测定前将试剂一、三和四 37°C 水浴 5min 以上，试剂二使用时在冰上放置。
- ③ 操作表：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管 1	空白管 2
样本	20	20	-	-
蒸馏水	-	20	20	40
试剂一	120	120	120	120
试剂二	20	-	20	-
试剂三	20	20	20	20
试剂四	20	20	20	20

充分混匀，37°C 水浴 30min 后，450nm 处测定各管吸光值 A。
 ΔA 测定 = A 测定管 - A 对照管， ΔA 空白 = A 空白管 1 - A 空白管 2
 (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)。

五、结果计算：

1、抑制百分率的计算：

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

尽量使样本的抑制百分率在 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，则需适当稀释样本；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或者提高加样表中的样本量，但需相应减少测定管和对照管中试剂一的体积。

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。

3、SOD 酶活性计算：

a. 按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性 (U/g 质量)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_2] \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times D \end{aligned}$$

b. 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性 (U/mg prot)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_2] \div (V_1 \times C_{pr}) \times D \\ &= 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div C_{pr} \times D \end{aligned}$$

c. 按细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_2] \div (\text{细胞数量} \times V_1 \div V) \times D \\ &= 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div \text{细胞数量} \times D \end{aligned}$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V₁---加入反应体系中样本体积，0.02mL；

V₂---反应体系总体积，0.2mL；

D---样本稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样本质量，g；

细胞数量---以万计；

C_{pr}---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

