

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0096	超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒 (微量法)	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 20mL × 1 瓶	4℃, 避光
试剂二	液体 150μL × 1 瓶	4℃, 避光
试剂三	液体 50μL × 1 瓶: 临用前用蒸馏水稀释 100 倍, 用多少配多少。 (试剂三和蒸馏水 1: 99 稀释。)	4℃
试剂四	粉剂 × 2 瓶: 临用前将一瓶试剂四用 300μL 试剂五溶解后再加入 4.7mL 蒸馏水溶解 (溶解后一周内用完)。	4℃
试剂五	液体 1.5mL × 1 瓶	4℃

一、产品说明

超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, 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 H₂O₂ 和 O₂。SOD 不仅是超氧化物阴离子清除酶, 也是 H₂O₂ 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(O₂⁻), O₂⁻可与 WST-8 反应产生水溶性染料甲臌, 后者在 450nm 处有吸收; SOD 可清除 O₂⁻, 从而抑制了甲臌的形成; 反应液黄色越深, 说明 SOD 活性愈低, 反之活性越高。

二、自备材料

酶标仪、离心机、移液器、96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品准备

- 1、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、细胞/细菌: 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。
- 3、血浆/血清: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 450nm, 蒸馏水调零。
- 2、工作液配制: 在试剂一加入 100μL 试剂二, 充分混匀。配好的试剂 4℃ 避光可保存一周。

(若一次性测定样本较少, 可按照实际用量将试剂一和试剂二按照 20mL: 0.1mL 的比例混匀配制)。

3、在 96 孔板中依下表操作:

试剂名称 (μL)	测定光	对照管
样本	10	
蒸馏水		10
稀释后的试剂三	10	10
工作液	160	160
试剂四	20	20
充分混匀, 室温静置 30min 后, 450nm 处测定各管吸光值 A。对照管只需做一管。		

五、活性的计算

1、抑制百分率的计算:

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

尽量使样本的抑制百分率在 10-90% 范围内。如果计算出来的抑制百分率小于 10% 或大于 90%, 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、按照样本蛋白浓度计算:

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性(U/mg prot)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V \text{ 反总}] \div (V \text{ 样} \times \text{Cpr}) \\ &= 20 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

需要另外测定蛋白浓度, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

4、按照样本鲜重计算

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性(U/g 鲜重)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V \text{ 反总}] \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \\ &= 20 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \end{aligned}$$

5、按照细菌/细胞密度计算

$$\begin{aligned} \text{SOD 活力(U/10}^4 \text{ ceLL)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V \text{ 反总}] \div (500 \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \\ &= 0.04 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \end{aligned}$$

6、按照血清/血浆体积计算

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性(U/mL)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V \text{ 反总}] \div V \text{ 样} \\ &= 20 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \end{aligned}$$

V 反总: 反应体系总体积, 0.2mL; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.01mL; 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。

V 反总: 反应体系总体积, 4×10^{-4} L; ε: 丙二醛摩尔消光系数, 155×10^3 L / mol / cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 样: 加入样本体积, 0.1 mL; 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。

六、注意事项

SOD 为什么有的样本测定管大于对照管, 对照管数值在什么范围?

- 1、对照管的范围是 0.4-1。对照管吸光值过低可能是 (1) 试剂三活性低, 可以适当减少稀释倍数; (2) 没有按顺序加试剂; (3) 反应时间不够, 可以延长反应时间 (反应时间 30min 可以延长到 40min)。对照管吸光值过高可能是试剂三未按操作说明书稀释相应倍数。
- 2、若出现测定管大于对照管, 可能是样本中杂质的影响太大, 为了降低杂质的影响一般将样本提取上清液用蒸馏水或提取液稀释 10 倍后再测, 通常可以使测定正常。计算公式中乘以相应稀释倍数。