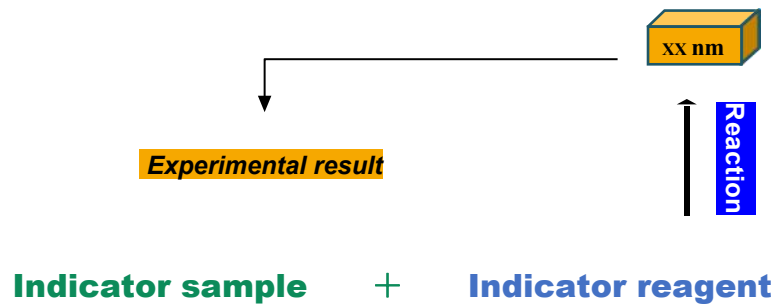


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD) 试剂盒说明书

可见分光光度法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

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 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。

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(O²⁻)，O²⁻可还原氮蓝四唑生成蓝色甲贖，后者在560nm 处有吸收；SOD 可清除 O²⁻，从而抑制了甲贖的形成；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、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水
试剂的组成和配制：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	60mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	15mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	用时加入 27ml 蒸馏水，充分摇匀悬浊液
试剂三	液体 175 μL×1 支	4℃保存	与蒸馏水1: 1稀释后再使用
试剂四	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	-

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。
- 2、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。
- 3、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（ μ L）	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) = $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \times \text{样本稀释倍数} = 11.4 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times \text{样本稀释倍数}$

(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，建议使用我司 ZC-S0470 BCA 蛋白法含量检测试剂盒

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；C_{pr}：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