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
试剂一	液体 20mL ×1 瓶	4℃，避光
试剂二	粉剂 ×1 支：临用前使用 20mL 试剂一充分溶解，配好的试剂 4℃避光可保存一周。	4℃，避光
试剂三	液体 110μL ×1 瓶：临用前用蒸馏水稀释 10 倍，用多少配多少。	4℃
试剂四	液体 2.5mL ×1 瓶	-20℃

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 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($O^{2-\cdot}$), $O^{2-\cdot}$可与 WST-8 反应产生水溶性染料甲臜，后者在 450nm 处有吸收；SOD 可清除 $O^{2-\cdot}$，从而抑制了甲臜的形成；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

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量比色皿/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（10^4 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、测定前将试剂一、二和四 37℃水浴 5min 以上。

3、样本测定（按照顺序依次加入）：

试剂名称（μL）	测定光	对照管 1	对照管 2	对照管 3
样本	10			
蒸馏水		10	10	10
稀释后的试剂三	10	10	10	10
试剂四	20	20	20	20
试剂二	160	160	160	160
充分混匀，室温静置 30min 后，450nm 处测定各管吸光值 A。				

五、活性的计算

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 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藕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：

SOD 活性(U/mg prot)=[抑制百分率÷(1－抑制百分率)×V 反总]÷(V 样×Cpr)

=20×抑制百分率÷(1－抑制百分率)÷Cpr。

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

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)

=20×抑制百分率÷(1－抑制百分率)÷W。

5、按照细菌/细胞密度计算

SOD 活力(U/10^4 ceLL)=[抑制百分率÷(1－抑制百分率) ×V 反总]÷(500×V 样÷V 样总)

=0.04×抑制百分率÷(1－抑制百分率)。

6、按照血清/血浆体积计算

SOD 活性(U/mL)=[抑制百分率÷(1－抑制百分率)×V 反总]÷V 样

=20×抑制百分率÷(1－抑制百分率)

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。

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、 对照管只需要做三管，求平均值。

2、 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）。

3、 对照管吸光值过高可能是（1）试剂三未按操作说明书稀释相应倍数； (2)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。