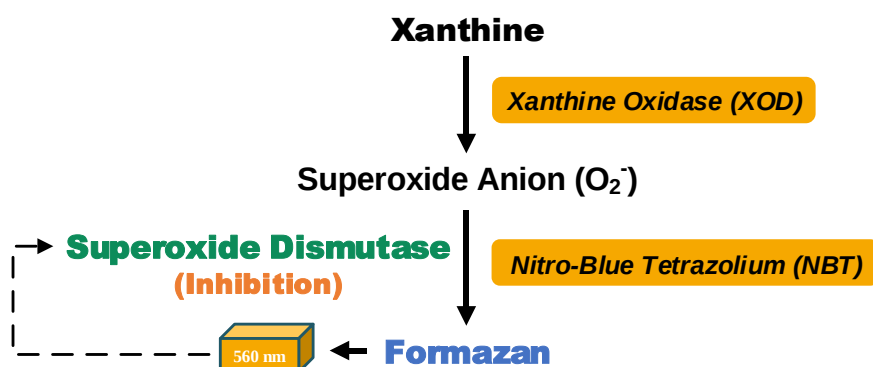




超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒
Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒

Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit

一、产品描述

超氧化物歧化酶 (SOD) 是一种广泛存在于生物体内的金属酶，作为重要的氧自由基清除剂，能够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。

黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统能够产生超氧阴离子 (O_2^-)， O_2^- 可还原氮蓝四唑生成蓝色甲胍，产物在 560 nm 处具有特征吸收峰；SOD 可清除 O_2^- ，从而抑制甲胍的形成，反应液颜色越深，表明 SOD 活性愈低，反之活性越高，通过吸光值变化即可表征超氧化物歧化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 40 μ L×1 支	4°C 避光保存	使用前按照试剂二：提取液=1:19 的体积比配制 (配制前先离心收集再吹打混匀后使用，现用现配)
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂四	粉剂×1 支	4°C 保存	-
试剂五	液体 2 mL×1 瓶	4°C 避光保存	使用前将试剂四加入试剂五中充分溶解 (根据使用量蒸馏水稀释 5 倍后使用，现用现配)

注：吸取 1 mL 试剂五加入试剂四中，振荡混匀（约 1 min）至完全溶解后洗入试剂五中。

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，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1 mL提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率20%或200 W，超声3 s，间隔10 s，重复30次），4℃8000 g离心10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或使用提取液适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热30 min以上，调节波长至560 nm，蒸馏水调零。

②试验前将**试剂一**、**试剂三**和**试剂五** 37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）预热5 min以上。

③在96孔板或离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μ L)	对照组 (μ L)	空白组 1 (μ L)	空白组 2 (μ L)
粗酶液	20	20	-	-
试剂一	90	90	90	90
试剂二	10	-	10	-
蒸馏水	-	10	20	30
试剂三	40	40	40	40
试剂五	40	40	40	40
充分混匀，25℃准确反应30 min				

吸光值测定：测定560 nm处吸光值，记为A测定、A对照、A空1、A空2；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空1}} - A_{\text{空2}}$ 。注：空白组1和空白组2只需测定1-2次，每个样本均需设一个对照组。

3.超氧化物歧化酶（SOD）活性计算

（1）抑制百分率的计算

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

注：抑制百分率应控制在30-70%范围内，越靠近50%越准确；若抑制百分率小于30%或大于70%，则需要调整样本量后重新测定：若抑制百分率偏高，则需将粗酶液适当稀释后再进行测定；若抑制百分率偏低，则需适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改。

(2) **SOD 酶活性单位定义**：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 酶活性计算公式

①按组织样本浓度计算

$$\text{SOD (U/mg prot)} = \frac{\text{抑制百分率} \times V_{\text{反总}} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}}} = \frac{10 \times \text{抑制百分率} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times \text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{SOD (U/g)} = \frac{\text{抑制百分率} \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times W \times V_{\text{样}}} = \frac{10 \times \text{抑制百分率} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{SOD (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\text{抑制百分率} \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times 500 \times V_{\text{样}}} = \frac{0.02 \times \text{抑制百分率} \times D}{(1 - \text{抑制百分率})}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{SOD (U/mL)} = \frac{\text{抑制百分率} \times V_{\text{反总}} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{样}}} = \frac{10 \times \text{抑制百分率} \times D}{(1 - \text{抑制百分率})}$$

注释： V 反总：反应体系总体积，0.2 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；500：细胞或细菌数量，500 万；D：样本稀释倍数。

四、注意事项

①粗酶液和试剂二在测定过程中应置于冰上放置，以免造成变性或失活；

②若测定样本较多时，可将试剂一、试剂二和试剂三按表格中比例配制作作为检测工作液，试剂五必须最后加入；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

