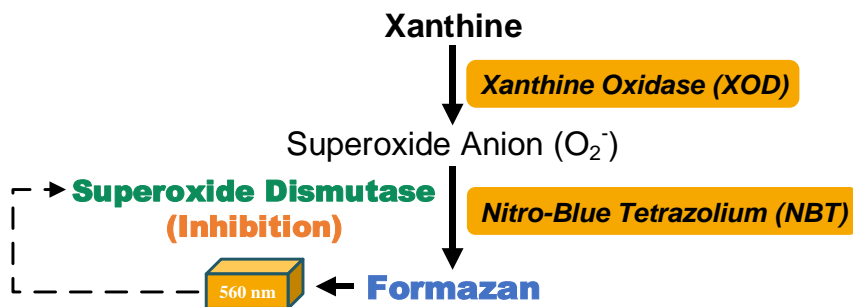




超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒  
Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit



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反应，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甲贖，产物在 560 nm 处具有特征吸收峰；SOD 可清除  $O_2^-$ ，从而抑制甲贖的形成，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 80 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 100 $\mu$ L×1 支	4°C 避光保存	使用前先离心收集再吹打混匀后使用
试剂三	液体 25 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 4 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 (配制后 4°C 可保存 1 个月)

注：试剂五配制时建议吸取 2 mL 试剂五加入试剂四中，充分振荡至完全溶解后，再转移至试剂五中即可。

## 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、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、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 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次)，4°C 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分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 560 nm，蒸馏水调零。
- ②**试剂二应用液的制备（现用现配）**：使用前根据使用量按试剂二：提取液=1:7 的体积比配制。
- ③**试剂五应用液的制备（现用现配）**：使用前根据使用量按试剂五：蒸馏水=1:9 的体积比配制。
- ④试验前将**试剂一、试剂三和试剂五应用液**置于 25°C 预热 5 min 以上。
- ⑤在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 ( $\mu\text{L}$ )	对照管 ( $\mu\text{L}$ )	空白管 1 ( $\mu\text{L}$ )	空白管 2 ( $\mu\text{L}$ )
粗酶液	90	90	-	-
试剂一	500	500	500	500
试剂二应用液	10	-	10	-
蒸馏水	-	10	90	100
试剂三	200	200	200	200
试剂五应用液	200	200	200	200

充分混匀，25°C 准确反应 30 min

**吸光值测定**：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 560 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 空 1、A 空 2；计算  $\Delta A$  测定=A 测定-A 对照， $\Delta A$  空白=A 空 1-A 空 2。注：每个样本均需设一个对照管，空白管 1 和空白管 2 只需测定 1-2 次。

## 3.超氧化物歧化酶（SOD）活性计算

### 3.1 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%，则需要调整后重新测定：若抑制百分率大于 70%，建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定；若抑制百分率低于 30%，建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改。

### 3.2 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。

### 3.3 SOD 酶活性计算公式

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{SOD (U/mg prot)} = \frac{\text{抑制百分率} \times V_{\text{反总}} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}}} = \frac{11.1 \times \text{抑制百分率} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times \text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{SOD (U/g)} = \frac{\text{抑制百分率} \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times W \times V_{\text{样}}} = \frac{11.1 \times \text{抑制百分率} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{SOD (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\text{抑制百分率} \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times 500 \times V_{\text{样}}} = \frac{0.022 \times \text{抑制百分率} \times D}{(1 - \text{抑制百分率})}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{SOD (U/mL)} = \frac{\text{抑制百分率} \times V_{\text{反总}} \times D}{(1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{样}}} = \frac{11.1 \times \text{抑制百分率} \times D}{(1 - \text{抑制百分率})}$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.09 mL；V 反总：反应体系总体积，1 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，以万计；D：粗酶液稀释倍数，若粗酶液未进行稀释则为 1。

#### 四、注意事项

- ①粗酶液和试剂二应用液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、试剂二应用液和试剂三按表格中比例配制作作为检测工作液，试剂五应用液必须最后加入；
- 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.

