

超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0175

规格：100T/48S、200T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	100T 规格	200T 规格	保存条件
提取液	液体 110 mL×1 瓶	液体 110 mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 100 μL×1 支	液体 200 μL×1 支	2-8℃保存
试剂三	液体 4 mL×1 瓶	液体 8 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 0.25 mL×1 支	液体 0.5 mL×1 支	2-8℃保存

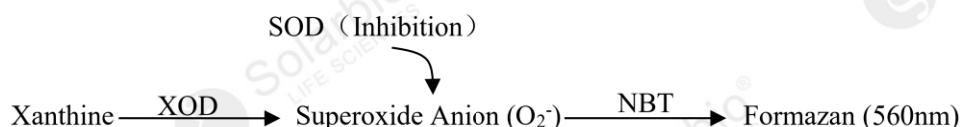
溶液的配制：

- 1、试剂二：使用前先使用掌上离心机离心至管底再吹打混匀；
- 2、试剂二工作液：根据样本数量按试剂二：蒸馏水=30μL：270μL（共 300μL，约 15S）的比例配制试剂二工作液，现用现配；
- 3、试剂四工作液：根据样本量按试剂四：蒸馏水=60μL：240μL（共 300μL，约 30T）的比例配制试剂四工作液，现用现配。

产品说明：

SOD (EC 1.15.1.1) 是一种广泛存在于生物体内的金属酶，是重要的氧自由基清除剂，能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^-)， O_2^- 可还原氮蓝四唑生成蓝色甲臞，后者在 560nm 处有吸收；SOD 可清除 O_2^- ，从而抑制了甲臞的形成；反应液蓝色越深，说明 SOD 活性愈低，反之活性越高。血清或者 SOD 酶活小的样本更适合使用 BC5165 超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒（WST-1 法）进行测定。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 细胞、细菌样本：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清，按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎（功率 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）。8000g 4℃离心 10 分钟，取上清，置冰上待测。





2. 组织样本：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）样本：直接检测。

注：该试剂盒的样本匀浆上清也可用于 BC0090/BC0095（过氧化物酶）、BC0020/BC0025（丙二醛）、BC0200/BC0205（过氧化氢酶）、BC0680/BC0685（乳酸脱氢酶）的测定。

二、测定步骤

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

2. 临用前根据样本数量取部分试剂一、试剂三和试剂四工作液 37℃水浴 5min 以上。

3. 样本测定（按顺序在 96 孔板或 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称（μL）	测定管	对照管	空白管 1	空白管 2
样 本	20	20	-	-
试剂一	45	45	45	45
试剂二工作液	20	-	20	-
试剂三	35	35	35	35
蒸馏水	70	90	90	110
试剂四工作液	10	10	10	10

充分混匀，37℃反应 30min 后，560nm 处测定各管吸光值 A。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空白1}} - A_{\text{空白2}}$ 。如底部有沉淀，混匀后再行测定。（空白管 1 和空白管 2 各只需做 1~2 管；每个样本有一个对照管）

三、SOD 活性计算

1、抑制百分率的计算

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

尽量使样本的抑制百分率在 30-70% 范围内，越靠近 50% 越准确。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，则需适当稀释样本；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或者提高操作表中样本体积，同时减少相同的蒸馏水体积。

2、SOD 酶活性单位：在 1mL 体系中，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 酶活性定义为一个酶活性单位。

3、SOD 酶活性计算：

$$\begin{aligned} \text{(1) 血清（浆）SOD 活性 (U/mL)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div 1\text{mL} \div V_{\text{样}} \times F \\ &= 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times F \end{aligned}$$

(2) 组织、细菌或培养细胞 SOD 活性计算：

a. 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性 (U/mg prot)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div 1\text{mL} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times F \\ &= 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div C_{\text{pr}} \times F \end{aligned}$$

b. 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性 (U/g 质量)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div 1\text{mL} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times F \\ &= 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times F \end{aligned}$$

c. 按细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{SOD 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} &= [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}}] \div 1\text{mL} \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times F \\ &= 10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times F \div N \end{aligned}$$



V 反总: 反应总体积, 0.2mL; V 样: 加入反应体系中的样本体积, 0.02mL; V 样总: 加入提取液体积 1mL;
Cpr: 蛋白样本浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; N: 细胞或细菌总数, 以万计; F: 样本稀释倍数; 1mL: 1mL 反应体系。

注意事项:

- 1、样本和试剂二工作液使用时在冰上放置。
- 2、样本较多时, 可按表格配制测定管工作液和对照管工作液 (包含试剂一、(试剂二工作液)、试剂三、蒸馏水), 试剂四工作液必须最后加入。
- 3、反应完成后, 可能有沉淀生成, 混匀后测定即可。

实验实例:

- 1、取 0.1g 大鼠肾脏加入 1mL 提取液进行匀浆研磨, 取上清之后按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照 = $0.566 - 0.138 = 0.428$, ΔA 空白 = A1 空白 - A2 空白 = $0.802 - 0.041 = 0.761$, 抑制百分率 = $(\Delta A \text{ 空白} - \Delta A \text{ 测定}) \div \Delta A \text{ 空白} \times 100\% = 43.8\%$, 按样本质量计算酶活得:
SOD 活性 (U/g 质量) = $10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W = 77.94 \text{ U/g 质量}$ 。
- 2、取 0.1g 稗草叶片加入 1mL 提取液进行匀浆研磨, 取上清用蒸馏水稀释 4 倍后按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照 = $0.498 - 0.078 = 0.42$, ΔA 空白 = A1 空白 - A2 空白 = $0.771 - 0.042 = 0.729$, 抑制百分率 = $(\Delta A \text{ 空白} - \Delta A \text{ 测定}) \div \Delta A \text{ 空白} \times 100\% = 42.4\%$, 按样本质量计算酶活得:
SOD 活性 (U/g 质量) = $10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times 4$ (稀释倍数) = 294.4 U/g 质量 。
- 3、取 20 μ L 羊血清蒸馏水稀释 50 倍后直接按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照 = $0.467 - 0.049 = 0.418$, ΔA 空白 = A1 空白 - A2 空白 = $0.771 - 0.042 = 0.729$, 抑制百分率 = $(\Delta A \text{ 空白} - \Delta A \text{ 测定}) \div \Delta A \text{ 空白} \times 100\% = 42.7\%$, 按血清/血浆体积计算酶活得:
血清 (浆) SOD 活性 (U/mL) = $10 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times 50$ (稀释倍数) = 372.6 U/mL 。
- 4、取 1000 万细胞加入 1mL 提取液, 超声破碎, 离心取上清, 直接按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照 = $0.52 - 0.058 = 0.462$, ΔA 空白 = A1 空白 - A2 空白 = $0.802 - 0.04 = 0.762$, 抑制百分率 = $(\Delta A \text{ 空白} - \Delta A \text{ 测定}) \div \Delta A \text{ 空白} \times 100\% = 39.4\%$, 按细胞/细菌数量计算酶活得:
SOD 活性 (U/ 10^4 cell) = $[\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V \text{ 反总}] \div (1000 \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) = 0.0065 \text{ U}/10^4 \text{ cell}$ 。

相关发表文献:

- [1] Xu J, Xu J, Shi T, Zhang Y, Chen F, Yang C, Guo X, Liu G, Shao D, Leong KW, Nie G. Probiotic-Inspired Nanomedicine Restores Intestinal Homeostasis in Colitis by Regulating Redox Balance, Immune Responses, and the Gut Microbiome. Adv Mater. 2023 Jan;35(3): e2207890. doi: 10.1002/adma.202207890. Epub 2022 Dec 15. PMID: 36341495.
- [2] Xu J, Chu T, Yu T, Li N, Wang C, Li C, Zhang Y, Meng H, Nie G. Design of Diselenide-Bridged Hyaluronic Acid Nano-antioxidant for Efficient ROS Scavenging to Relieve Colitis. ACS Nano. 2022 Aug 23;16(8):13037-13048. doi: 10.1021/acsnano.2c05558. Epub 2022 Jul 21. PMID: 35861614.
- [3] Zheng Q, Liu H, Zhang H, Han Y, Yuan J, Wang T, Gao Y, Li Z. Ameliorating Mitochondrial Dysfunction of Neurons by Biomimetic Targeting Nanoparticles Mediated Mitochondrial Biogenesis to Boost the Therapy of Parkinson's Disease. Adv Sci (Weinh). 2023 Aug;10(22): e2300758. doi: 10.1002/advs.202300758. Epub 2023 May 18. PMID: 37202595; PMCID: PMC10401119.
- [4] Yan H, Meng Y, Li X, Xiang R, Hou S, Wang J, Wang L, Yu X, Xu M, Chi Y, Yang J. FAM3A maintains metabolic





homeostasis by interacting with FI-ATP synthase to regulate the activity and assembly of ATP synthase. Metabolism. 2023 Feb; 139:155372. doi: 10.1016/j.metabol.2022.155372. Epub 2022 Dec 5. PMID: 36470472.

[5] Zhang S, Wang H, Liu M, Yu H, Peng J, Cao X, Wang C, Liu R, Kamali M, Qu J. Press perturbations of microplastics and antibiotics on freshwater micro-ecosystem: Case study for the ecological restoration of submerged plants. Water Res. 2022 Nov 1; 226:119248. doi: 10.1016/j.watres.2022.119248. Epub 2022 Oct 14. PMID: 36323200.

参考文献:

[1] Spitz D R, Oberley L W. An assay for superoxide dismutase activity in mammalian tissue homogenates[J]. Analytical Biochemistry, 1989, 179(1):8-18.

[2] Masayasu M, Hiroshi Y. A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use[J]. Clinica Chimica Acta, 1979, 92(3):337-342.

相关系列产品:

- BC0190/BC0195 多酚氧化酶 (PPO) 活性检测试剂盒
- BC0210/BC0215 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性检测试剂盒
- BC0200/BC0205 过氧化氢酶 (CAT) 活性检测试剂盒
- BC0090/BC0095 过氧化物酶 (POD) 活性检测试剂盒

