

凯基总 SOD 检测试剂盒（改良黄嘌呤氧化酶法）

适用于血清、细胞培养上清以及动植物组织

说明书修订日期：2015.07.13

Cat number: KGT00150-KGT001100

Store at -20°C for 12 months

For Research Use Only（科研专用）

一、检测原理

本试剂盒是通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子自由基（ $O_2^{\cdot-}$ ），后者氧化盐酸羟胺形成亚硝酸盐，亚硝酸盐再与显色剂的作用下产生紫红色化合物，用可见分光光度计测其吸光度。

当反应体系中加入 SOD 时，催化超氧阴离子自由基发生歧化反应而减少，使形成的亚硝酸盐减少，最终产生的紫红色变浅，通过比色时测定管的吸光度值低于对照管的吸光度值，通过公式计算可求出被测样品中的 SOD 活力。加入的 SOD 活性越高，颜色变化越显著。

二、试剂盒组分

组 份	Cat: KGT001100 100 assays	Cat: KGT00150 50 assays	储存条件
试剂 A	100 ml	50 ml	4°C
试剂 B	10 ml	5 ml	4°C
试剂 C	10 ml	5 ml	4°C
试剂 D	350 μ l \times 2	350 μ l \times 1	-20°C
试剂 D 稀释液	10ml	5ml	4°C
试剂 E	75 ml	37.5 ml	4°C，避光
试剂 F	75 ml	37.5 ml	4°C

注：

1. 临用前，制备试剂 D 工作液。将试剂 D 以试剂 D 稀释液溶解备用， $V_{\text{试剂 D}} : V_{\text{试剂 D 稀释液}} = 1 : 14$ 。
2. 临用前，配制显色液。配方为，试剂 E：试剂 F：冰醋酸=3：3：2 的体积比，配制显色液，制备完成的显色液，可 4°C 避光冷藏 3 个月。

三、检测样本的预处理

1. 血清以及细胞培养上清液：12000g 离心 5min，取上清待检测。
2. 动物组织：取 100mg 的组织，加 1mL 预冷的生理盐水研磨匀浆，成 10% 的匀浆液，12000g 离心 5min，取上清待检测。

3. 植物组织：取 100mg 的组织，加 1mL 的 PBS (pH7.8) 在冰浴研钵中研磨，12000g 离心 5min，去上清待检测。

注：如不能立即检测，可暂时放置 4℃，24 小时内检测。

四、操作方法

在试管中依次加入下表中的试剂：

加入试剂	空白管	样品空白管	样品管
A (mL)	1.0	1.0	1.0
样品 (mL)	-	a*	a
B (mL)	0.1	0.1	0.1
C (mL)	0.1	0.1	0.1
D 工作液 (mL)	0.1	0.1	0.1
用漩涡振荡器充分混匀，置于 37℃ 水浴 40min			
显色液 (mL)	2.0	2.0	2.0

注：a. 不经过加热的样品溶液；a*. 经过 80℃ 水浴 5min 的样品溶液。a=0.05ml

混匀，室温放置 10min，用蒸馏水调零，于波长 550nm，测定吸光度值。

五、SOD 活性计算

1. 对于液体样品

$$\text{SOD 样品比活力 (U/mL)} = \frac{\text{空白管吸光度} - \text{样品管吸光度}}{\text{空白管吸光度}} \times 50\% \times \frac{\text{体积}}{\text{加样量}}$$

$$\text{SOD 样品空白比活力 (U/mL)} = \frac{\text{空白管吸光度} - \text{样品空白管吸光度}}{\text{空白管吸光度}} \times 50\% \times \frac{\text{体积}}{\text{加样量}}$$

SOD 样品真实比活力值 (U/mL) = SOD 样品比活力值 - SOD 样品空白比活力值。

2. 对于固体样品

$$\text{SOD 样品比活力 (U/g)} = \frac{\text{空白管吸光度} - \text{样品管吸光度}}{\text{空白管吸光度}} \times 50\% \times \frac{\text{体积}}{\text{加样量} \times \text{样品质量}}$$

$$\text{SOD 空白样品比活力 (U/g)} = \frac{\text{空白管吸光度} - \text{样品空白管吸光度}}{\text{空白管吸光度}} \times 50\% \times \frac{\text{体积}}{\text{加样量} \times \text{样品质量}}$$

SOD 样品真实比活力值 (U/g) = SOD 样品比活力值 - SOD 样品空白比活力值。