

超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒说明书

(货号: BC009 WST-1法)

(声明: 测试前请仔细阅读说明书, 预试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担)

一、试剂组成与配制

	组 份	BC009 : 96T	保 存
试剂一	缓冲液	30mL× 1瓶	2 ~ 8℃保存6个月
试剂二	底物贮备液	0.15mL× 1支	2 ~ 8℃保存6个月
底物应用液的配制: 底物贮备液 : 缓冲液按1 : 200的比例混匀配成底物应用液, 现用现配, 用多少配多少。			
试剂三	酶贮备液	0.30mL× 1支	-20℃以下保存6个月
试剂四	酶稀释液	4mL× 1瓶	2 ~ 8℃保存6个月
酶工作液的配制: 酶贮备液 : 酶稀释液按1 : 10的比例混匀配制成酶工作液, 现用现配, 用多少配多少。			

二、所需仪器

任意规格酶标仪 (450±10nm波长) 、普通一次性96孔微孔板 (附送一块) 、微量移液器 (单道移液器、多道移液器) 、恒温孵育箱

三、操作表

	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
待测样本(μL)	-	-	20	20
蒸馏水(μL)	20	20	-	-
酶工作液(μL)	20	-	20	-
酶稀释液(μL)	-	20	-	20
底物应用液(μL)	200	200	200	200
混匀, 37℃孵育20分钟, 450 nm处酶标仪读数				

四、注意事项

- 1、请用多道移液器来加底物应用液以缩短时间, 减少各孔间的误差。
- 2、用96孔板操作时, 轻轻震荡孔板, 保证样本与试剂的充分接触。
- 3、正式检测之前, 需挑取1-2例正常组样本, 稀释成不同浓度进行预实验, 选取抑制率在40%-60%的这一孔的浓度, 进行正式批量试验。
- 4、此方法特异性强, 专一性测定SOD, 排除了类SOD的测定干扰。如需要测定类SOD, 请购买类SOD试剂盒!
- 5、此法抑制率可达100%。
- 6、对照孔、对照空白孔一批实验只需要各做1-3孔, 测定空白孔视情况而定(样本有颜色、有浊度等需要单独做, 其它情况可以随机挑选1-3个样本做)。

五、单位定义

单位定义: 在本反应体系中SOD抑制率达50%时所对应的酶量为一个SOD活力单位(U)。SOD的活力单位在不同的实验条件下有不同的定义, 例如血清(浆)、组织、培养细胞、红细胞、植物、药物、化妆品、饮料等样本不

同，因而计算公式也不同，具体参照附录。

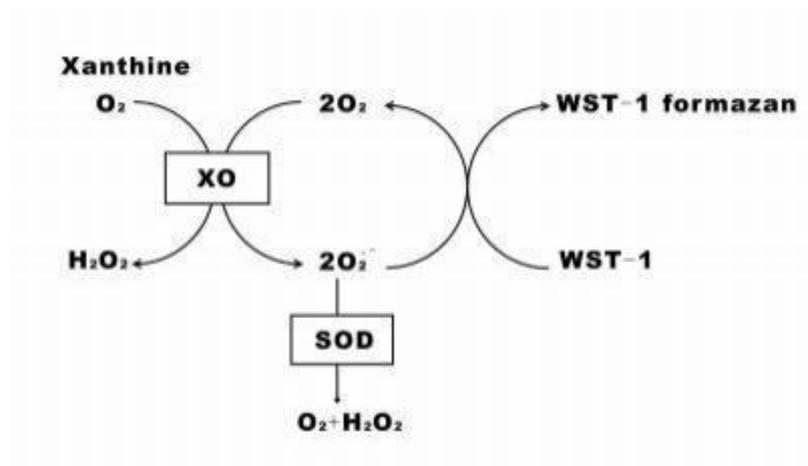
六、测定意义

本试剂盒测定超氧化物歧化酶（Superoxide Dismutase, SOD）活力，可测血清(浆)、脑脊液、胸水、腹水、肾透析液、尿液、红细胞、白细胞、血小板、心肌培养细胞、肿瘤培养细胞、各种动植物组织细胞及亚细胞水平(线粒体、微粒体)中的SOD活力，并可检测微生物、药物、食品、饮料、化妆品中的SOD活力。

七、主要技术性能参数

- 1、对照OD \geq 0.2
- 2、反应温度：37 $^{\circ}$ C 波长 =450nm (\pm 10nm)
- 3、批内CV =5.05%
- 4、批间CV =3.32%
- 5、检出限：0.5U/mL

八、测定原理



附录 I：血清（浆）等液体样本中SOD的测定

一、样本前处理

- 1、观察血清（浆），如有浑浊需3500转/分左右，离心10分钟，取上清待用。
- 2、将澄清的血清（浆）用生理盐水稀释成不同浓度进行预实验。

二、操作表

	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
待测血清(μ L)	-	-	20	20
蒸馏水(μ L)	20	20	-	-
酶工作液(μ L)	20	-	20	-
酶稀释液(μ L)	-	20	-	20
底物应用液(μ L)	200	200	200	200
混匀，37 $^{\circ}$ C 孵育20分钟，450 nm处酶标仪读数				

三、计算公式及定义

- 1、定义：在本反应体系中SOD抑制率达50%时所对应的酶量为一个SOD活力单位（U）。
- 2、血清、血浆、细胞培养上清、果汁等液体样本的计算公式：

①、按公式计算SOD的抑制率：

$$\text{SOD 抑制率} (\%) = \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\%$$

②、按公式计算SOD的活力：

$$\text{SOD 活力} (\text{U/ml}) = \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} \times \frac{\text{样本测试前}}{\text{稀释倍数}}$$

四、计算举例：

正常人血浆用生理盐水5倍稀释后取20 μL 按操作表操作，得对照孔吸光度0.3214，对照空白孔吸光度0.0765，测定孔吸光度0.2418，测定空白孔吸光度0.1031，则计算如下：

$$\begin{aligned} \text{SOD 抑制率} (\%) &= \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\% \\ &= \frac{(0.3214 - 0.0765) - (0.2418 - 0.1031)}{(0.3214 - 0.0765)} \times 100\% = 43.36\% \\ \text{SOD 活力} (\text{U/ml}) &= \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} \times \frac{\text{样本测试前}}{\text{稀释倍数}} \\ &= 43.36\% \div 50\% \times \frac{0.24\text{ml}}{0.02\text{ml}} \times 5 = 52.03(\text{U/ml}) \end{aligned}$$

附录 II：动物组织样本中SOD的测定

一、样本前处理：

- 1、准确称取组织重量，按照重量（g）:体积(mL)=1:9的比例加入9倍体积生理盐水，剪碎组织，冰水浴制备匀浆，2500~3000转/分钟，离心10分钟，取上清即10%匀浆上清液待测。
- 2、蛋白测定：上述样本准备好后，同时可以用BCA或考马斯亮蓝试剂盒测定蛋白浓度，用于计算。
- 3、将10%组织匀浆上清用生理盐水稀释成不同浓度进行预实验。

二、操作表：

	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
待测匀浆上清(μL)	-	-	20	20
蒸馏水(μL)	20	20	-	-
酶工作液(μL)	20		20	-
酶稀释液(μL)	-	20	-	20
底物应用液(μL)	200	200	200	200
混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育20分钟，450 nm处酶标仪读数				

三、单位定义：

在本反应体系中SOD抑制率达50%时所对应的酶量为一个SOD活力单位（U）。

四、计算公式：

①、按公式计算SOD的抑制率：

$$\text{SOD 抑制率} (\%) = \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\%$$

②、按公式计算SOD的活力：

$$\text{SOD 活力} (\text{U/mgprot}) = \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} \times \frac{\text{待测样本蛋白浓度}}{(\text{mgprot/ml})}$$

五、计算举例：

取10%小鼠脑匀浆用生理盐水100倍稀释后取20 μ L按操作表操作，得对照孔吸光度0.3214，对照空白孔吸光度0.0765，测定孔吸光度0.2047，测定空白孔吸光度0.0788，同时测得1%脑匀浆蛋白浓度为0.435mgprot/mL，则计算如下：

$$\begin{aligned} \text{SOD 抑制率} &= \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\% \\ (\%) &= \frac{(0.3214 - 0.0765) - (0.2047 - 0.0788)}{(0.3214 - 0.0765)} \times 100\% = 48.59\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SOD 活力} &= \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系}}{\text{稀释倍数}} \left(\frac{0.24\text{ml}}{0.02\text{ml}} \right) * \text{待测样本蛋白浓度} \\ (\text{U/mgprot}) &= 48.59\% \div 50\% \times \frac{0.24\text{ml}}{0.02\text{ml}} \div (0.435 \div 10) = 268.08(\text{U} / \text{mgprot}) \end{aligned}$$

附录III：培养细胞中SOD的测定

一、样本前处理：

1、培养细胞的收集：

- ①、悬浮培养的细胞，可直接通过离心收集沉淀细胞（1000转/分，离心10分钟，弃上清留沉淀细胞）；
- ②、贴壁培养的细胞，吸去上清，可通过细胞刮直接将细胞刮下；或者是用0.25%的胰酶室温消化2~3分钟，加培养液终止消化，用微量移液器轻轻吹打，将所有液体吸出转入EP管，然后1000转/分，离心10分钟弃上清，留沉淀细胞，再加入1mL PBS轻轻吹打，再次1000转/分，离心10分钟弃上清，留沉淀细胞待用。如暂时不做，则可以将细胞低温冻存，温度越低越好。

2、培养细胞的破碎：（以下任选一种）

- ①、研磨破碎：在细胞沉淀中加入一定量（10⁶的细胞一般加0.3~0.5mL）的缓冲液（缓冲液可以用PBS或者是生理盐水），用手动玻璃匀浆器冰水浴研磨3~5分钟，或者是用卡富隆电动研磨器冰水浴研磨3分钟待测；
- ②、超声破碎：在细胞沉淀中加入一定量（10⁶的细胞一般加0.3~0.5mL）的缓冲液（缓冲液可以用PBS或者是生理盐水），需保证超声探头在液面以下。功率300W，冰水浴，每3~5S超声一次，间隔4次（每次间隔时间为30S左右）；（推荐此法）
- ③、反复冻融：可以用液氮进行反复冻融，让细胞在EP管或者是冻存管中加入一定量的低渗液或者蒸馏水，直接放入液氮中3~5秒，立即提出转入-20 $^{\circ}$ C冰箱（20~30秒），再取出室温解冻，解冻后再按前面重复3次。（注意从液氮中取出不可直接置于室温解冻，这样EP管等容易炸裂导致样本损失，所以一定要用冷冻进行梯度解冻）；
- ④ 化学裂解：贴壁培养的细胞，可直接将上清吸去后，直接在孔板或是瓶中加入一定量的裂解液（覆盖满细胞），裂解30~40分钟（可用显微镜观察细胞破碎情况），再用微量移液器吸出待测。根据需要可用生理盐水或PBS进行一定的稀释。

3、蛋白测定：上述样本准备好后，同时可以用BCA或考马斯亮蓝试剂盒测定蛋白浓度，用于计算。

二、操作表：

	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
待测样本(μ L)	-	-	20	20
蒸馏水(μ L)	20	20	-	-
酶工作液(μ L)	20		20	-
酶稀释液(μ L)	-	20	-	20
底物应用液(μ L)	200	200	200	200

混匀，37 $^{\circ}$ C孵育20分钟，450 nm处酶标仪读数

三、计算公式及定义：

1、定义： 在本反应体系中SOD抑制率达50%时所对应的酶量为一个SOD活力单位（U）。

2、 细胞样本中计算公式：

按公式计算SOD的抑制率：

$$\text{SOD 抑制率} (\%) = \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\%$$

按公式计算SOD的活力：

$$\text{SOD 活力} (U/\text{mgprot}) = \text{SOD抑制率} + 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} \times \text{待测样本蛋白浓度} (\text{mgprot}/\text{ml})$$

四、计算举例：

胰酶消化细胞， 用生理盐水洗涤一次细胞， 离心弃上清留沉淀细胞， 加入300微升生理盐水悬浮细胞， 转入电动卡福隆匀浆机冰水浴匀浆破碎细胞， 悬液用生理盐水10倍稀释后取20微升按上表操作， 得对照孔吸光度0.3214， 对照空白孔吸光度0.0765， 测定孔吸光度0.2016， 测定空白孔吸光度0.0793， 同时测得细胞原液蛋白浓度为0.5208mgprot/mL， 计算如下：

$$\begin{aligned} \text{SOD 抑制率} (\%) &= \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\% \\ &= \frac{(0.3214 - 0.0765) - (0.2016 - 0.0793)}{(0.3214 - 0.0765)} \times 100\% = 50.06\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SOD 活力} (U/\text{mgprot}) &= \text{SOD抑制率} + 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} \times \text{待测样本蛋白浓度} (\text{mgprot}/\text{ml}) \\ &= 50.06\% + 50\% \times \frac{0.24\text{ml}}{0.02\text{ml}} \times (0.5208 + 10) = 230.6912(U/\text{mgprot}) \end{aligned}$$

附录IV：植物组织中SOD的测定

一、样本前处理：

取植物组织， 用蒸馏水洗净表面污垢后， 用吸水纸擦干， 取适量于研钵中， 剪碎， 加入适量液氮， 快速研磨成粉， 取粉末称重， 按重量（g）： 体积(mL) = 1:9的比例， 加入9倍体积的磷酸盐缓冲液（磷酸盐缓冲液： 0.1mol/L pH7 ~ 7.4）， 漩涡混匀3分钟， 3500转/分以上， 离心10分钟取上清即10%匀浆上清液， 再用磷酸盐缓冲液稀释成不同浓度进行预实验。（对于水分含量较多的植物样本如番茄叶片或一些植物嫩叶等也可参照动物组织样本的前处理方法制成10%的匀浆）

注： 植物组织匀浆离心后的上清尽量澄清透亮， 可适当加大离心转速及离心时间。

二、操作表：

	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
待测样本(μL)	-	-	20	20
蒸馏水(μL)	20	20	-	-
酶工作液(μL)	20	-	20	-
酶稀释液(μL)	-	20	-	20
底物应用液(μL)	200	200	200	200
混匀， 37℃ 孵育20分钟， 450 nm处酶标仪读数				

三、计算公式及定义：

1、定义： 在本反应体系中SOD抑制率达50%时所对应的酶量为一个SOD活力单位（U）。

2、计算公式：

按公式计算SOD的抑制率：

$$\text{SOD 抑制率} (\%) = \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\%$$

按公式计算SOD的活力：

用蛋白表示结果：

$$\text{SOD 活力} (\text{U/mgprot}) = \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度} (\text{mgprot/ml})}$$

用组织鲜重计算结果：

$$\text{SOD 活力} (\text{U/g组织}) = \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} \times \frac{\text{测试前}}{\text{稀释倍数}} \div \frac{\text{组织称重} (\text{g})}{\text{所加匀浆缓冲液} (\text{ml})}$$

四、计算举例：

例1：准确称取0.2g青菜叶片，加入1.8mL的0.1M磷酸盐缓冲液，剪碎冰水浴匀浆制备10%青菜叶匀浆，再用磷酸盐缓冲液10倍稀释后取20μL按操作表操作，得对照孔吸光度0.3214，对照空白孔吸光度0.0765，测定孔吸光度0.2575，测定空白孔吸光度0.0791，同时测得10%青菜叶片匀浆蛋白浓度为3.9523mgprot/mL，则计算如下：

$$\begin{aligned} \text{SOD 抑制率} (\%) &= \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\% \\ &= \frac{(0.3214 - 0.0765) - (0.2575 - 0.0791)}{(0.3214 - 0.0765)} \times 100\% = 27.15\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SOD 活力} (\text{U/mgprot}) &= \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度} (\text{mgprot/ml})} \\ &= 27.15\% \div 50\% \times \frac{0.24\text{ml}}{0.02\text{ml}} \div (3.9523 \div 10) = 16.49(\text{U/mgprot}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SOD 活力} (\text{U/g组织}) &= \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} \times \frac{\text{测试前}}{\text{稀释倍数}} \div \frac{\text{组织称重} (\text{g})}{\text{所加匀浆缓冲液} (\text{ml})} \\ &= 27.15\% \div 50\% \times \frac{0.24\text{ml}}{0.02\text{ml}} \times 10 \div \frac{0.2\text{g}}{1.8\text{ml}} = 586.44(\text{U/g组织}) \end{aligned}$$

例2：准确称取0.2g芥兰叶片，加入1.8mL的0.1M磷酸盐缓冲液，剪碎冰水浴匀浆制备10%芥兰叶匀浆，再用磷酸盐缓冲液10倍稀释后取20μL按操作表操作，得对照孔吸光度0.3214，对照空白孔吸光度0.0765，测定孔吸光度0.2434，测定空白孔吸光度0.0811，同时测得10%青芥兰叶片匀浆蛋白浓度为3.2641mgprot/mL，则计算如下：

$$\begin{aligned} \text{SOD 抑制率} (\%) &= \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\% \\ &= \frac{(0.3214 - 0.0765) - (0.2434 - 0.0811)}{(0.3214 - 0.0765)} \times 100\% = 33.73\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SOD 活力} (\text{U/mgprot}) &= \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度} (\text{mgprot/ml})} \\ &= 33.73\% \div 50\% \times \frac{0.24\text{ml}}{0.02\text{ml}} \div (3.2641 \div 10) = 24.80(\text{U/mgprot}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SOD 活力} (\text{U/g组织}) &= \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} \times \frac{\text{测试前}}{\text{稀释倍数}} \div \frac{\text{组织称重} (\text{g})}{\text{所加匀浆缓冲液} (\text{ml})} \\ &= 33.73\% \div 50\% \times \frac{0.24\text{ml}}{0.02\text{ml}} \times 10 \div \frac{0.2\text{g}}{1.8\text{ml}} = 728.57(\text{U/g组织}) \end{aligned}$$

附录V：全血、红细胞中SOD的测定

一、样本前处理：

全血：收集肝素抗凝全血，轻轻颠倒混匀，定量吸取一定量的全血，加入4倍体积的冷蒸馏水，漩涡充分混匀30S，静置10分钟充分溶血（对光观察，溶液澄清透亮），即为5倍溶血液，再用蒸馏水稀释成不同浓度进行试验。

红细胞：收集肝素抗凝全血，轻轻颠倒混匀，离心分离上层血浆（离心转速根据动物种属有区别，如小鼠一般1000~1500转/分，大鼠、兔子一般2000~2500转/分，人一般2500~3000转/分，转速过高可能会导致红细胞破碎，血浆溶血），在下层红细胞中加入3倍体积的生理盐水，轻轻颠倒混匀，500转/分离心5分钟，弃上清留沉淀红细胞（洗涤红细胞），定量吸取一定量的红细胞，加入9倍体积的冷蒸馏水，漩涡充分混匀30秒，静置10分钟充分溶血（对光观察，溶液澄清透亮），即为10倍溶血液，再用蒸馏水稀释成不同浓度进行试验。

注：1、同时需测定5倍或10倍溶血液中的血红蛋白浓度，用于结果计算。

2、做不同浓度溶血液预实验摸索时，每个浓度都要做测定空白孔，批量检测时，同浓度情况下，测定空白孔只需做1-2孔。

二、操作表：

	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
待测溶血液(μL)	-	-	20	20
蒸馏水(μL)	20	20	-	-
酶工作液(μL)	20		20	-
酶稀释液(μL)	-	20	-	20
底物应用液(μL)	200	200	200	200
混匀，37℃孵育20分钟，450 nm处酶标仪读数				

三、计算公式及定义：

1、定义：在本反应体系中SOD抑制率达50%时所对应的酶量为一个SOD活力单位（U）。

2、全血、红细胞样本计算公式：

按公式计算SOD的抑制率：

$$\text{SOD 抑制率} (\%) = \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\%$$

按公式计算SOD的活力：

$$\text{SOD 活力} (\text{U/mgHb}) = \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} + \text{待测样本血红蛋白浓度} (\text{mgHb/ml})$$

四、计算举例：

取肝素抗凝小鼠全血，按样本前处理中的红细胞的处理方法，制备10倍溶血液后再用蒸馏水50倍稀释后取20μL按操作表操作，得对照孔吸光度0.3214，对照空白孔吸光度0.0765，测定孔吸光度0.1803，测定空白孔吸光度0.0801，同时测得10倍溶血液血红蛋白浓度为41.5501mgHb/mL，则计算如下：

$$\begin{aligned} \text{SOD 抑制率} (\%) &= \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\% \\ &= \frac{(0.3214 - 0.0765) - (0.1803 - 0.0801)}{(0.3214 - 0.0765)} \times 100\% = 59.09\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SOD 活力} (\text{U/mgHb}) &= \text{SOD抑制率} \div 50\% \times \frac{\text{反应体系} (0.24\text{ml})}{\text{稀释倍数} 0.02\text{ml}} + \text{待测样本血红蛋白浓度} (\text{mgHb/ml}) \\ &= 59.09\% \div 50\% \times \frac{0.24\text{ml}}{0.02\text{ml}} + (41.5501 \div 50) = 17.07(\text{U/mgHb}) \end{aligned}$$

附录VI：SOD标准曲线制作

一、前处理：

取Roche公司生产的SOD标准品，用容量瓶定容配成100μg/mL标准贮备液，再用蒸馏水将SOD标准贮备液稀释成50、40、25、20、10、5、4、2U/mL待测。

二、操作表：

	对照孔	对照空白孔	测定孔
不同浓度的标准液(μL)	-	-	20
蒸馏水(μL)	20	20	-
酶工作液(μL)	20		20
酶稀释液(μL)	-	20	-
底物应用液(μL)	200	200	200
混匀，37℃ 孵育20分钟，450 nm处酶标仪读数			

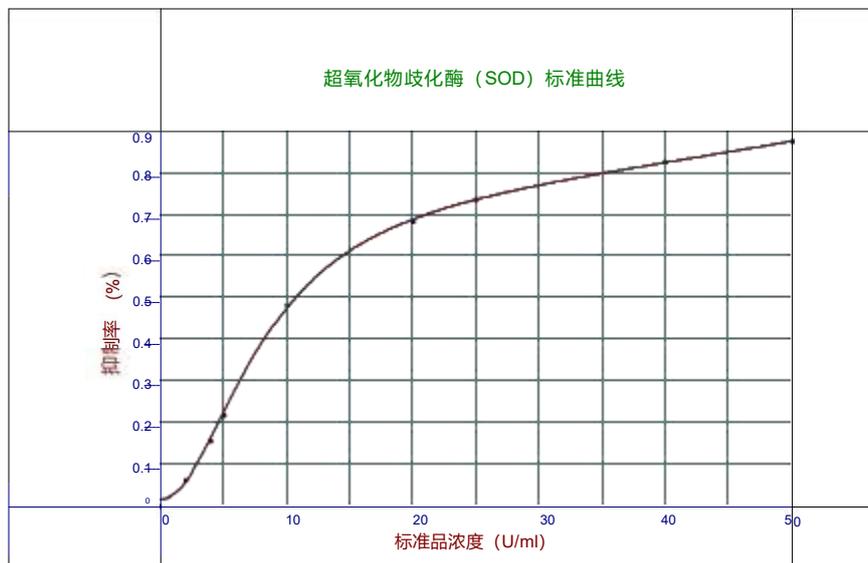
三、计算公式：

$$\text{SOD 抑制率}(\%) = \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}})} \times 100\%$$

四：检测结果：

孔别	标准浓度	吸光度	绝对OD	抑制率
对照		0.3214		
空白		0.0765		
1	2U/mL	0.3063	0.2298	6.16%
2	4 U/mL	0.2837	0.2072	15.38%
3	5 U/mL	0.2684	0.1919	21.63%
4	10 U/mL	0.2036	0.1271	48.12%
5	20 U/mL	0.1544	0.0779	68.18%
6	25 U/mL	0.1414	0.0649	73.48%
7	40 U/mL	0.1194	0.0429	82.50%
8	50 U/mL	0.1073	0.0308	87.42%

五、绘图如下：



(标准曲线仅供参考,用户不用制作)