

## Определение активности супероксиддисмутазы

Принцип данной методики определения активности супероксиддисмутазы основан на способности аутоокисления адреналина с ранее появляющимися продуктам окисления.

### Необходимая аппаратура:

- спектрофотометр;
- центрифуга.

### Необходимые реактивы:

1. **0,1% раствор адреналина** (5,46 мМоль/л аптечный адреналин);
2. **0,9% физиологический раствор** поваренной соли (к 0,9 г NaCl добавить 99,1 мл дистиллированной воды);
3. **0,2 М бикарбонатный буфер с pH 10,65** (к 21,19 г Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> долить до метки дистиллированной водой в 1 л мерной колбе, определить pH, который затем доводят до необходимой величины добавлением сухого NaHCO<sub>3</sub>).

**Ход определения** 0,1 мл дважды промытых физиологическим раствором эритроцитов внести в 0,9 мл дистиллированной воды и оставить на 30 минут для полной гемолиза. 10,0 мкл (0,01 мл) из полученного гемолизата внести в 2,0 мл бикарбонатного буфера и через 20 минут пробы внести в кювету, поставить её в кюветное отделение спектрофотометра и уже там добавить 0,1 мл адреналина. Быстро и тщательно перемешать, закрыть крышку спектрофотометра, обнулить показания, а затем, ровно через 5 минут, записать их. Длина волны 347 нм.

В контрольную пробу вносят 2,0 мл буфера, 10,0 мкл дистиллированной воды и оставляют на 20 минут, а дальше работать также как с исследуемой пробой, то есть после внесения адреналина обнулить показание и записать их через 5 минут.

	Контроль (мл)	Исследуемая проба (мл)
Гемолизат	–	10,0 мкл (0,01 мл)
Дистиллированная вода	10,0 мкл	–
Бикарбонатный буфер	2,0	2,0
	Оставить на 20 минут (можно для соблюдения постоянства условий ставить пробы под водопроводной водой)	
Адреналин (прямо в кювету)	0,1	0,1

**Расчёт** процента ингибирования (ед.ак.):  $[1 - (\Delta \text{ опыта} / \Delta \text{ контроля})] \times 100\%$

- $\Delta$  опыта – показания оптической плотности исследуемой пробы в начале определения и через 5 минут (в том случае, если нет возможности обнуления на спектрофотометре;
- $\Delta$  контроля – показания оптической плотности контроля в начале и через 5 минут.