

植物超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHA4-C24	超氧化物歧化酶(SOD) 试剂盒	24T	常量法
AMHA4-C48		48T	

一、测定意义：

超氧化物歧化酶(SOD)广泛存在于动物, 植物, 微生物和培养细胞中, 是活性氧清除系统中发挥重要作用的抗氧化酶。植物正常代谢过程和在各种环境胁迫下均能产生活性氧和自由基, 活性氧和自由基的积累会引起细胞结构和功能的破坏。SOD 岐化超氧化物阴离子自由基生成过氧化氢和分子氧。在保护细胞免受氧化损伤过程中具有十分重要的作用。

二、测定原理：

利用黄嘌呤氧化酶 (XO) 催化产生的超氧阴离子($\cdot\text{O}_2^-$)与 WST-8 反应产生水溶性的甲臜染料, 通过测量产物的吸光度来间接测定 SOD 活性, 后者在 450nm 处有吸收; SOD 可清除超氧阴离子, 从而抑制了甲臜的形成; 反应液颜色越深, 说明 SOD 活性愈低, 反之活性越高。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂一	液体 18mL×1 瓶	液体 36mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂二	液体 18mL×1 瓶	液体 36mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂三	液体 18mL×1 瓶	液体 36mL×1 瓶	2-8°C 保存
工作液的配制: 试剂一: 试剂二: 试剂三 = 2:3:3 比例配制, 现用现配, 低温存放;			
试剂四	液体 0.3mL×1 瓶	液体 0.3mL×2 瓶	-20°C 保存
试剂四应用液配制: 使用前按照试剂一: 试剂四=9:1 稀释, 现用现配。			

四、操作步骤：

样本前处理

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 0.05 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4°C 离心 10 min, 取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞: 按照细胞数量 10^4 个: 提取液体积 (mL) 500~1000:1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3 min), 5000 rpm, 4°C 离心 10 min, 取上清置冰上待测。

3、血清 (浆) 等液体样本: 直接测定。若有浑浊, 离心后取上清待测。

测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上, 波长调至 450nm, 蒸馏水调零;

2、测定前将试剂恢复至常温;

3、操作表 (将试剂依次加入离心管中)

试剂名称	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
样本 (μL)	-	-	100	100
试剂一 (μL)	100	200	-	100
试剂四 (μL)	100	-	100	-
工作液 (μL)	800	800	800	800

充分混匀, 37°C 孵育 20 分钟。取反应液于 1cm 光径比色皿中, 450nm 波长, 双蒸水调零, 分光光度计测定各孔吸光度值 A, 分别记为 $A_{\text{测定}}$, $A_{\text{测定空白}}$, $A_{\text{对照}}$, $A_{\text{对照空白}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}}$; $\Delta A_{\text{对照}} = A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}$ 。

五、超氧化物歧化酶计算:

1、SOD 酶活单位: 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。

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

2、血清样本 SOD 计算

$$\begin{aligned} \text{计算公式: } \text{SOD (U/mL)} &= D\% \div (1 - D\%) \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样本}} \\ &= 10 \times D\% \div (1 - D\%) \end{aligned}$$

3、组织、细胞样本 SOD 计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{计算公式: SOD (U/mg prot)} &= D\% \div (1 - D\%) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \\ &= 10 \times D\% \div (1 - D\%) \div C_{\text{pr}}\end{aligned}$$

(2) 按样本鲜重计算

$$\begin{aligned}\text{计算公式: SOD (U/g)} &= D\% \div (1 - D\%) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 10 \times D\% \div (1 - D\%) \div W\end{aligned}$$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned}\text{计算公式: SOD (U/10}^4) &= D\% \div (1 - D\%) \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 0.02 \times D\% \div (1 - D\%)\end{aligned}$$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 1mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL;

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W : 样本质量, g; 500: 细胞/细菌数, 500 万。

六、注意事项:

1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本, 稀释成不同浓度进行预试, 以选取最佳取样浓度; 如果计算出来的抑制百分率小于 30% 或大于 70%, 则通常需要把该样品重新测定。尽量使样品的抑制百分率在 30-70% 范围内。如果测定出来的抑制百分率偏高, 则需适当稀释样品; 如果测定出来的抑制百分率偏低, 则需重新准备浓度较高的待测样品。

2、准备好的样品如果当天测定, 可以冰浴保存; 如果当天不能完成测定, 可以-70°C 冻存, 但建议尽量当天完成测定。

3、试剂二可能会存在部分沉淀析出, 使用前需要充分混匀。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日