

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 歧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($\cdot O_2^-$)与 WST-8 反应产生水溶性的甲臞染料, 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, 从而抑制了甲臞的形成; 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℃ 保存
试剂一	液体 18mL×1 瓶	液体 36mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	液体 18mL×1 瓶	液体 36mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三	液体 18mL×1 瓶	液体 36mL×1 瓶	2-8℃ 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℃ 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℃ 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℃ 离心 10min, 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

- 分光光度计预热 30min 以上, 波长调至 450nm, 蒸馏水调零;
- 测定前将试剂恢复至常温;
- 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℃ 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。

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

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

3、组织、细胞样本 SOD 计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

计算公式：
$$\text{SOD (U/mg prot)} = D\% \div (1-D\%) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr})$$
$$= 10 \times D\% \div (1-D\%) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

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

(3) 按照细菌或细胞数量计算

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

$V_{\text{反总}}$ ：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； Cpr：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℃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