

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-M48	超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒	48T	微量法
AMHA4-M96		96T	微量法

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。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臍染料，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，从而抑制了甲臍的形成；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 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 15mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 7mL×1 瓶	液体 15mL×1 瓶	4℃保存
试剂三	液体 7mL×1 瓶	液体 15mL×1 瓶	4℃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：直接测定。若有浑浊，离心后取上清待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，波长调至 450nm；
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、操作表（将试剂依次加入 96 孔板中）

试剂名称	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
样本 (μL)	-	-	20	20
试剂一 (μL)	20	40	-	20
试剂四 (μL)	20	-	20	-
工作液 (μL)	160	160	160	160
充分混匀，37℃ 孵育 20 分钟。450nm 波长，酶标仪测定各孔吸光度值 A，分别记为 A _{测定} ，A _{测定空白} ，A _{对照} ，A _{对照空白} 。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{测定空白}$ ； $\Delta A_{对照} = A_{对照} - A_{对照空白}$ 。				

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。

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

2、血清样本 SOD 计算

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

3、组织、细胞样本 SOD 计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

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

$$= 10 \times D\% \div (1 - D\%) \div Cpr$$

(2) 按样本鲜重计算

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

$$= 10 \times D\% \div (1 - D\%) \div W$$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

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

$$= 0.02 \times D\% \div (1 - D\%)$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.2mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL；

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

500：细胞/细菌数，500 万；W：样本称重，g。

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，可超声加速溶解。

【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