

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 |
| | | 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 叢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 (48T) | 试剂装量 (96T) | 保存条件 |
|--|--------------|--------------|----------|
| 提取液 | 液体 60mL×1 瓶 | 液体 110mL×1 瓶 | 4°C 保存 |
| 试剂一 | 液体 15mL×1 瓶 | 液体 20mL×1 瓶 | 4°C 保存 |
| 试剂二 | 液体 7mL×1 瓶 | 液体 15mL×1 瓶 | 4°C 保存 |
| 试剂三 | 液体 7mL×1 瓶 | 液体 15mL×1 瓶 | 4°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 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°C 孵育 20 分钟。450nm 波长，酶标仪测定各孔吸光度值 A，分别记为 $A_{\text{测定}}$, $A_{\text{测定空白}}$, $A_{\text{对照}}$, $A_{\text{对照空白}}$ 。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。

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

2、血清样本 SOD 计算

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

3、组织、细胞样本 SOD 计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

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

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

(2) 按样本鲜重计算

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

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

(3) 按照细菌或细胞数量计算

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

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

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 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，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