

## 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
PMHA4-C24	超氧化物歧化酶 (SOD)试剂盒	24T	常量法
PMHA4-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 (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

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量 (g)：提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液)，旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 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

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 <sub>测定</sub> ，A <sub>测定空白</sub> ，A <sub>对照</sub> ，A <sub>对照空白</sub> 。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：

SOD 酶活性单位：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。

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

(1) 按样本蛋白浓度计算

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

(2) 按样本鲜重计算

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

$V_{\text{反应总}}$ : 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。

## 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。

## 【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