

## 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-M48	超氧化物歧化酶(SOD) 试剂盒	48T	微量法
PMHA4-M96		96T	

### 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	2-8°C 保存
试剂一	液体 15mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂二	液体 7mL×1 瓶	液体 15mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂三	液体 7mL×1 瓶	液体 15mL×1 瓶	2-8°C 保存
<b>工作液的配制:</b> 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
<b>试剂四应用液配制:</b> 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°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

#### 测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上, 波长调整至 450nm, 蒸馏水调零;

2、操作表 (在 96 孔板中加入以下试剂) :

试剂名称	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
样本 ( $\mu\text{L}$ )	-	-	20	20
试剂一 ( $\mu\text{L}$ )	20	40	-	20
试剂四 ( $\mu\text{L}$ )	20	-	20	-
工作液 ( $\mu\text{L}$ )	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:

**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。

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

(1) 按样本蛋白浓度计算

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

(2) 按样本鲜重计算

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

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

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

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

$W$ : 样本质量, 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。

## 【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 9 日

修改日期: 2025 年 4 月 9 日