

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	常量法

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。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

通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子($\cdot\text{O}_2^-$), 超氧阴离子可还原氮蓝四唑生成蓝色甲臞, 后者在 560nm 处有吸收; SOD 可清除超氧阴离子, 从而抑制了甲臞的形成; 反应液蓝色越深, 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	4℃ 保存
试剂一	液体 18mL×1 瓶	液体 36mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	液体 18mL×1 瓶	液体 36mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂三	液体 18mL×1 瓶	液体 36mL×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 0.5mL×1 瓶	液体 1mL×1 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

- 1、分光光度计预热 30min 以上；
- 2、操作表

	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
粗酶液 (μL)	-	-	100	100
试剂一 (μL)	100	200	-	100
试剂四应用液体 (μL)	100	-	100	-
工作液 (μL)	800	800	800	800

充分混匀，37℃ 孵育 30 分钟。取反应液于 1cm 光径比色皿中，560nm 波长，双蒸水调零，分光光度计测定各孔吸光度值 A。

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。

$$\text{抑制百分率} = ((A_{\text{对照孔}} - A_{\text{对照空白孔}}) - (A_{\text{测定孔}} - A_{\text{测定空白孔}})) \div (A_{\text{对照孔}} - A_{\text{对照空白孔}}) \times 100\%$$

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{计算公式: SOD (U/mgprot)} = \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times n$$

(2) 按样本鲜重计算

$$\text{计算公式: SOD (U/g 鲜重)} = \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n$$

$V_{\text{反总}}$: 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;

n : 样本稀释倍数

六、计算举例

取一定量的新鲜苦瓜叶片，液氮研磨后，准确称取 0.1g 粉末，加入 1mL 提取液，混匀抽提 3 分钟提取，8000g，4℃离心 10min，制备粗酶液，按照操作步骤操作。将粗酶液 5 倍稀释后，测得对照孔为 0.4086，对照空白孔为 0.0405，测定孔为 0.2057，测定空白孔为 0.0412，将测得数据带入计算公式中：

$$\text{抑制百分率} = ((0.4086 - 0.0405) - (0.2057 - 0.0412)) \div (0.4086 - 0.0405) = 44.69\%$$

$$\text{SOD (U/g 鲜重)} = 44.69\% \div (1 - 44.69\%) \times 1 \div (0.1 \times 0.1 \div 1) \times 5 = 404.0 \text{ (U/g)}$$

七、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。

八、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广，品质可靠。