

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 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 (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 0.6mL×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、酶标仪预热 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)	-	-	20	20
试剂一 (μL)	20	40	-	20
试剂四应用液体 (μL)	20	-	20	-
工作液 (μL)	160	160	160	160
充分混匀, 37℃ 孵育 30 分钟。560nm 波长, 酶标仪测定各孔吸光度值 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。

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

(1) 按样本蛋白浓度计算

计算公式: SOD (U/mgprot) = 抑制百分率 ÷ (1 - 抑制百分率) × V_{反应总} ÷ (V_样 × Cpr) × n

(2) 按样本鲜重计算

计算公式: SOD (U/g 鲜重) = 抑制百分率 ÷ (1 - 抑制百分率) × V_{反应总} ÷ (W × V_样 ÷ V_{样总}) × n

V_{反应总}: 反应体系总体积, 0.2mL;

V_样: 加入样本体积, 0.02mL;

V_{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、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。

七、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。