超氧化物歧化酶（SOD）试剂盒说明书（WST-8法）

规格：96样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1.正式检测前选取2~3个样本上清进行预检测。

2.本试剂盒仅用于科研。

3.试剂三，不可冷冻，使用时在冰上放置。

4. 在加入试剂三后尽量混匀再加入下一个试剂。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	120 mL×1	4℃	
试剂一	20 mL×1	4℃避光	
试剂二	150 μL×1	4℃避光	
试剂三	100 μL×1	4℃避光	
试剂四	粉剂×2 瓶	4℃	临用前取一瓶加10 μL试剂五与2 mL提取液超声或震荡至溶解，再加入8 mL提取液充分混匀。（溶解后一周内用完）另一瓶备用。
试剂五	200 μL×1	4℃	

1. 试剂三的稀释：将试剂三用提取液稀释20倍，用多少配多少。（试剂三和提取液5：95稀释。

2. 工作液配制：根据样本数量，可按照实际用量将试剂一和试剂二按照10 mL：　0.1 mL的比例混匀配制） 配好的试剂 4℃避光可保存一周。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 植物、动物组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约 0.1 g组织，加入1 mL提取液）进行冰浴匀浆，然后，8000 g，4℃，离心10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 细菌、真菌：按照细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为

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200 w，超声3 秒，间隔10 秒，重复30 次）；然后8000 g，4℃， 离心10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 血清、血浆、培养液等液体：直接测定。

五、测定步骤：

1.酶标仪预热30 min以上，波长调至450 nm处。

2.在96孔板中依次加入：

注意：正式实验开始前，取 2~3个预期差异较大的样品上清液进行预实验。

	测定管	对照管
样本 （μL）	10	-
蒸馏水 （μL）	-	10
试剂三稀释后 （μL）	10	10
工作液 （μL）	160	160
试剂四 （μL）	20	20
充分混匀，室温静置30 min后，450 nm处测定各管吸光值A，记 A测定、A对照。对照管只需要做2~3管。		

六、计算：

SOD活性计算：

1、抑制百分率的计算

抑制百分率＝（A 对照管－A 测定管）÷A对照管×100%

尽量使样本的抑制百分率在10~90%范围内。如果计算出来的抑制百分率小于10%或大于90%，则通常需要调整加样量后重新测定。如果测定出来的抑制百分率偏高，则需将样本用提取液适当稀释；如果测定出来的抑制百分率偏低，则需重新准备浓度比较高的待测样本。

2、SOD酶活性单位：在上述黄嘌呤氧化酶藕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（U/mL）。

3、SOD酶活性计算：

（1）血清（浆）SOD活性（U/mL）=[抑制百分率÷（1－抑制百分率）×V反总]÷V样=20×抑制百分率÷（1－抑制百分率）

（2）组织、细菌或培养细胞SOD活力计算：

a.按样本蛋白浓度计算（需要另外测定）

SOD 活性（U/mg prot）=[抑制百分率÷（1－抑制百分率）×V反总]÷（V样×Cpr）=20×抑制百分率÷（1－抑制百分率）÷Cpr

b.按样本鲜重计算

SOD活性（U/g 鲜重）=[抑制百分率÷（1－抑制百分率）×V反总]÷(W×V样÷V样总）=20×抑制百分率÷（1－抑制百分率）÷W

c.按细菌或细胞个数计算

SOD活力（U/10^4 cell）=[抑制百分率÷（1－抑制百分率）×V反总]÷（500×V样÷样总）=0.04×抑制百分率÷（1－抑制百分率）

V反总：反应体系总体积，0.2 mL；V样：加入反应体系中样本体积，0.01 mL；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；500：细胞或细菌总数，500万。

七、产品简介

超氧化物歧化酶的核心作用，就是精准地清除植物中超氧阴离子自由基这种有害物质。它能高效地催化超氧阴离子自由基发生歧化反应，将其转化为毒性低得多的过氧化氢和氧气，生成的过氧化氢随后会被过氧化氢酶等其他抗氧化酶进一步分解为无害的水。通过这一机制，超氧化物歧化酶有效维持了细胞内活性氧的平衡，保护细胞结构和功能的完整性。