CheKine™ 超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1030　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

	适用样本：动植物组织、细胞、真菌、细菌、血清（浆）
	保质期：-20℃，避光保存 6 个月

01 背景与原理

超氧化物歧化酶（SOD，EC1.15.1.1）催化超氧阴离子发生歧化反应生成 H_2O_2 和 O_2，是细胞中抵抗超氧化物自由基毒性的重要抗氧化剂，也是体内 H_2O_2 的主要生成酶。SOD 活性异常与肌萎缩侧索硬化、围产期致死、神经紊乱和癌症等疾病有关。

本试剂盒检测原理是黄嘌呤氧化酶（XO）催化黄嘌呤产生超氧阴离子（O_2^-），O_2^-与 WST-8 反应生成水溶性甲臜，反应液呈黄色。SOD 催化清除 O_2^-，抑制甲臜的形成。因此显色越深，说明 SOD 活性越低，反之活性越高。测定其在 450 nm 处的吸光度值即可计算样本中 SOD 的活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Assay Buffer	18 mL	36 mL	4℃
Sample Diluent	18 mL	36 mL	4℃
Lysis Buffer (5×)	12 mL	24 mL	4℃
WST-8	0.7 mL	1.4 mL	-20℃，避光保存
Enhancer	130 μL	260 μL	-20℃，避光保存
Xanthine Oxidase	130 μL	260 μL	-20℃
Xanthine	1.3 mL	1.3 mL×2	-20℃

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 450 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS/去离子水	样本清洗用/试剂稀释用
其他	匀浆器（组织样本）、水浴锅、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

注意：各组分开盖前，请先低速离心。

试剂名称	试剂准备	注意事项
Assay Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Sample Diluent	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
1×Lysis Buffer	临用前配制；用去离子水将 Lysis Buffer (5×)稀释 5 倍配成 1×Lysis Buffer。	4℃保存
WST-8	即用型	实验过程中冰上避光放置；分装避光保存于-20℃，避免反复冻融。
Enhancer	即用型	实验过程中冰上避光放置；分装避光保存于-20℃，避免反复冻融。Enhancer 正常为紫红色溶液，如遇发黄，请与 Abbkine 工作人员联系。
Working Xanthine Oxidase	临用前配制；用 Sample Diluent 将 Xanthine Oxidase 稀释 20 倍配成 Working Xanthine Oxidase。	实验过程中冰上避光放置；分装避光保存于-20℃，避免反复冻融。
Xanthine	即用型	实验过程中冰上避光放置；分装避光保存于-20℃，避免反复冻融。如果该组分出现浑浊，使用前请短暂涡旋。

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。处理好的样本须当天检测。如果分别检测胞浆和线粒体的 SOD 活性，组织/细胞样本的制备，请参考 *Mattiazzi et al (2002). JBC 277:29626-33*。

- **动物组织：**称取 0.1 g 动物组织加入 1 mL 预冷的 1×Lysis Buffer 将样本进行冰浴匀浆。4℃，12000 g 离心 5 min，取上清置于冰上待测。
- **植物组织：**称取 0.1 g 植物样本，加入 1 mL 预冷的 1×Lysis Buffer 捣碎，然后进行冰浴超声破碎。超声波破碎 3 min（功率 30%或 300 W，超声 3 s，间隔 7 s）。4℃，12000 g 离心 5 min，取上清置于冰上待测。
- **细胞(菌)或真菌：**收集 5×10^6 个细胞（菌）或真菌，用预冷的 PBS 清洗 1 次，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL 预冷的 1×Lysis Buffer 进行冰浴超声破碎。超声波破碎 3 min（功率 30%或 300 W，超声 3 s，间隔 7 s）。4℃，12000 g 离心 5 min 后，取上清置于冰上待测。
- **血清（浆）：**按常规方法收集血清，用 Sample Diluent 稀释后即可进行检测。用抗凝管收集血液，颠倒混匀；4℃，600 g 离心 10 min，移取上清至另一新的离心管中，用 Sample Diluent 稀释后即可作为血浆样本进行检测。

05-3 实验步骤

注意：空白孔和空白对照孔只需各做 2-3 孔；不同背景颜色的样本需要各设置一个对照孔，去除样本本身的背景色。

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 450 nm。
2. **Working Reagent 的配制**：临用前配制；每孔吸取 148 μL Assay Buffer，10 μL Xanthine，5 μL WST-8，1 μL Enhancer，混匀后待用。测定前将 Working Reagent 在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）孵育 5 min 以上。
3. **检测体系配制**：在 96 孔板中按照如下方式操作

试剂	样本孔（μL）	样本对照孔（μL）	空白孔（μL）	空白对照孔（μL）
样本	20	20	0	0
Working Xanthine Oxidase	40	0	40	0
Sample Diluent	0	40	20	60
Working Reagent	164	164	164	164

4. **吸光度检测：**充分混匀，37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）孵育 30 min。测定 450 nm 处吸光度值，分记为 $A_{样本}$、$A_{样本对照}$、$A_{空白}$和 $A_{空白对照}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn] > 进入“**技术中心**”> 查找“**在线计算器**”工具。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{样本}=A_{样本}-A_{样本对照}$，$\Delta A_{空白}=A_{空白}-A_{空白对照}$。

2. 抑制百分率的计算

抑制百分率=$(\Delta A_{空白}-\Delta A_{样本})\div\Delta A_{空白}\times100\%$

3. SOD 活性计算

酶活单位定义：在上述黄嘌呤氧化酶催化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)。

- 按样本质量计算

SOD (U/g)=[抑制百分率÷(1-抑制百分率)×$V_{反总}$]÷(W×$V_{样}$÷$V_{样总}$)**=11.2×抑制百分率÷(1-抑制百分率)÷W**

- 按细菌、细胞或真菌数量计算:

SOD (U/10^4)=[抑制百分率÷(1-抑制百分率)×$V_{反总}$]÷(500×$V_{样}$÷$V_{样总}$)**=0.0224×抑制百分率÷(1-抑制百分率)**

- 按液体体积计算

SOD (U/mL)=[抑制百分率÷(1-抑制百分率)×$V_{反总}$]÷$V_{样}$**=11.2×抑制百分率÷(1-抑制百分率)**

- 按蛋白浓度计算

SOD (U/mg prot)=[抑制百分率÷(1-抑制百分率)×$V_{反总}$]÷($V_{样}$×Cpr)**=11.2×抑制百分率÷(1-抑制百分率)÷Cpr**

$V_{反总}$：反应体系总体积，0.224 mL；W：样本质量，g；$V_{样}$：加入反应体系中样本体积，0.02 mL；$V_{样总}$：加入 1×Lysis Buffer 体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细菌、细胞或真菌总数，5×10^6，以 10^4 为单位。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 小鼠肝脏，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得$\Delta A_{样本}=A_{样本}-A_{样本对照}$=0.443-0.216=0.227，$\Delta A_{空白}=A_{空白}-A_{空白对照}$=0.644-0.042=0.602，抑制百分率=$(\Delta A_{空白}-\Delta A_{测定})\div\Delta A_{空白}\times100\%$=62.29%。按样本质量计算得：SOD (U/g)=11.2×抑制百分率÷(1-抑制百分率)÷W=185 U/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本$\Delta A_{样本}$过高或者过低怎么办?**

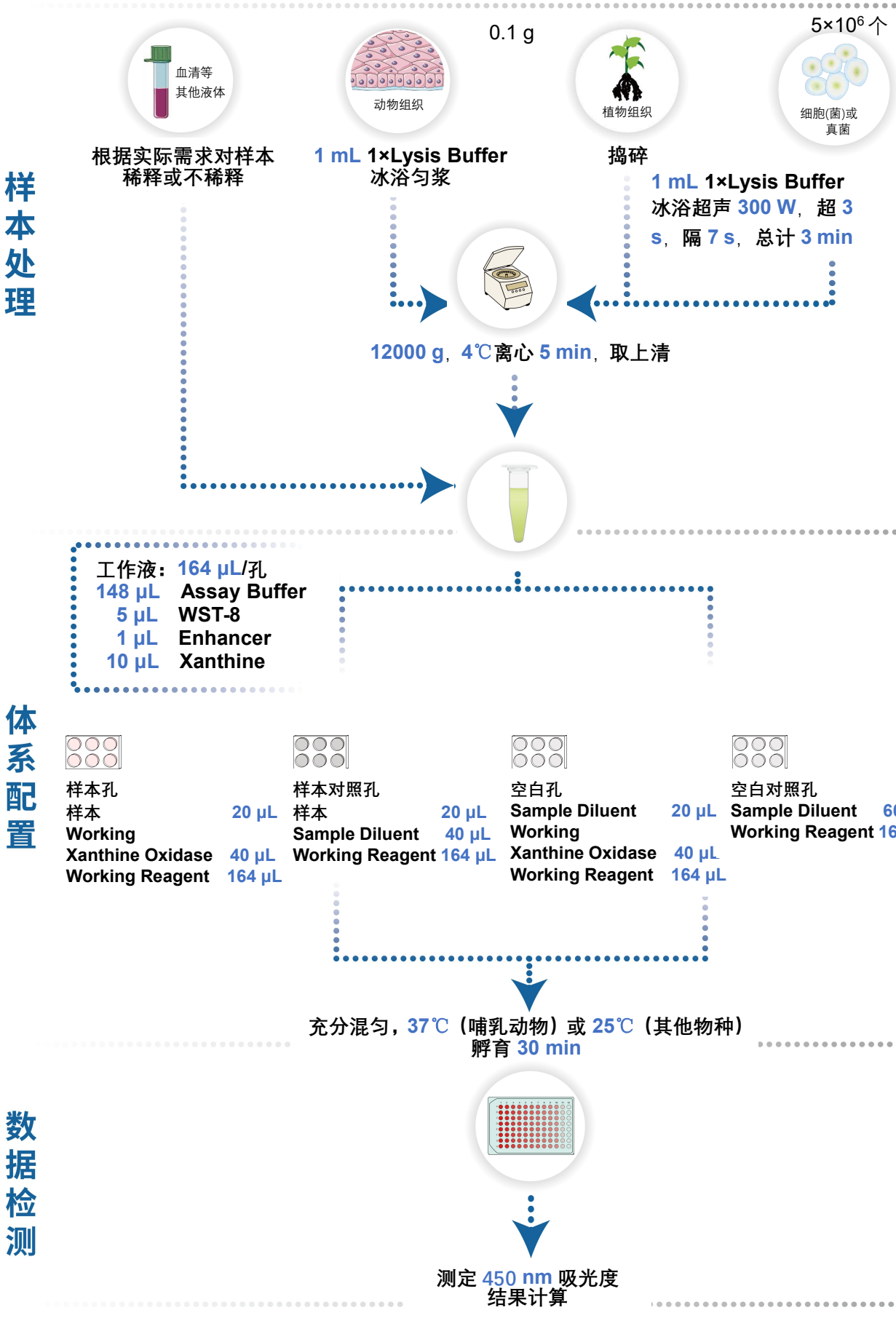
尽量使样本的抑制百分率在 30-70%范围内。如果计算出来的抑制百分率小于 30%或大于 70%，则通常需要调整加样量后重新测定。如果测定出来的抑制百分率偏高，则需将样本用 Sample Diluent 进行适当稀释，重新进行测定；如果测定出来的抑制百分率偏低，则需重新准备浓度比较高的待测样本，重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1150	CheKine™ 过氧化物酶（POD）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1040	CheKine™ 过氧化氢酶（CAT）活性分析试剂盒（微量法）
KTB1041	CheKine™ 过氧化氢（H_2O_2）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 超氧化物歧化酶（SOD）活性检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB1030）



V1.0