

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: GBQ073

产品规格: 48T(44 samples)/96T(92 samples)

检测仪器: 酶标仪 (540-560 nm)

Elabscience®总超氧化物歧化酶 (T-SOD)

比色法测试盒 (羟胺法)

Total Superoxide Dismutase (T-SOD)

Activity Assay Kit (Hydroxylamine Method)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

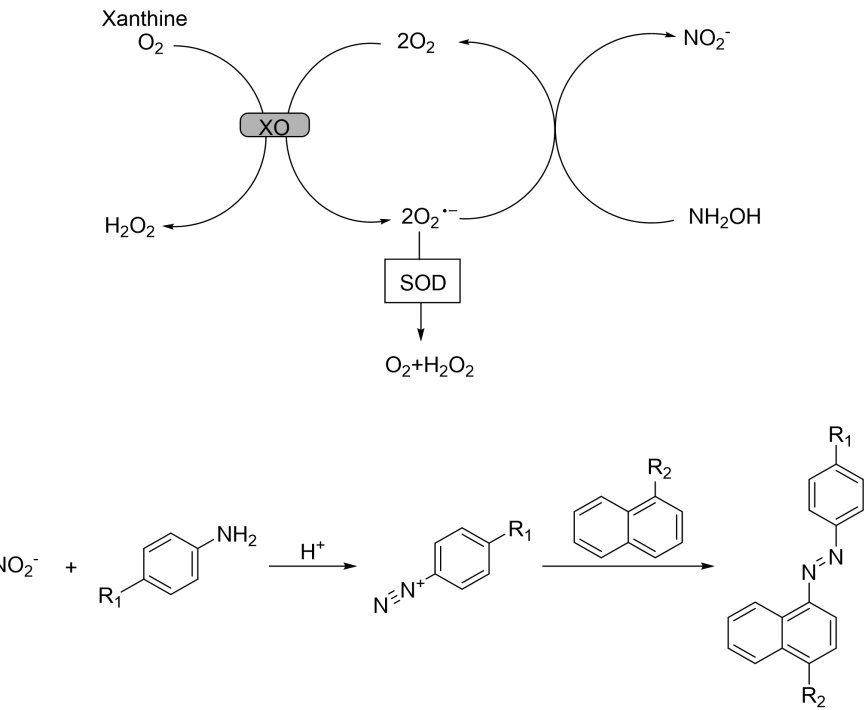
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、尿液、细胞及细胞上清、各种动植物组织中的 T-SOD 活力。

检测原理

通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot-}$)，它氧化羟胺形成亚硝酸盐，在显色剂作用下产生紫红色化合物。当反应体系中加入 SOD 后，催化超氧阴离子自由基发生歧化反应，使形成的亚硝酸盐减少，进而产生的紫红色变浅。根据样品管与对照管中的吸光度差值，来计算 SOD 的活性。



本试剂盒检测组织及细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：GBQ162）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	1.2 mL×1 支	1.2 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	亚硝基发生剂 (Nitrosogenic Agent)	1.2 mL×1 支	1.2 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	基质液 (Substrate Solution)	1.2 mL×1 支	1.2 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶储备液 (Enzyme Stock Solution)	0.03 mL×1 支	0.06 mL×1 支	-20℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	酶稀释液 (Enzyme Diluent)	1.2 mL×1 支	1.2 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂八 (Reagent 8)	显色剂 C (Chromogenic Agent C)	6 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(540-560 nm, 最适检测波长 550 nm)、恒温箱、微量移液器(1000 μL , 200 μL , 100 μL , 10 μL)、离心机。

试剂：双蒸水、生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS (0.01 M, pH 7.4)。

试剂准备

① 检测前, 将试剂四置于冰盒上缓慢融化, 混匀, 试剂盒中的其他试剂平衡至室温。

② 试剂一应用液配制:

将试剂一: 双蒸水按照1: 9的体积比稀释, 2-8℃保存3个月。

③ 试剂四应用液配制:

在冰盒上操作, 按照试剂四: 试剂五为1: 19的体积比配制, 现用现配, 未用完的试剂2-8℃可保存3天。

④ 试剂六应用液配制:

向试剂六瓶中加入9 mL双蒸水, 拧紧瓶盖, 放入烘箱中65℃, 40 min, 充分溶解(或加入9 mL70-80℃双蒸水, 充分混匀溶解), 2-8℃避光保存3个月。

⑤ 试剂七应用液配制:

向试剂七瓶中加入9 mL双蒸水溶解, 2-8℃避光保存1个月。

⑥ 显色剂的配制:

按照试剂六应用液: 试剂七应用液: 试剂八为3: 3: 2的体积比配制, 现用现配, 配好的显色剂2-8℃避光保存1个月。

⑦ 酶工作液配制:

在冰盒上操作, 按照试剂二: 试剂三: 试剂四应用液为1: 1: 1的体积比配制, 临用前配制, 配制完成后, 需要在20 min内使用。

⑧ 非酶工作液配制:

按照试剂二: 试剂三: 试剂五为1: 1: 1的体积比配制, 临用前配制, 配制完成后, 需要在20 min内使用。(只需要配制3孔的量即可)

样本准备

① 样本处理

样本要求：样本中不能含有SDS、Tween20、NP-40、Triton X-100等去污剂，不能含有DTT、2-巯基乙醇等还原性试剂。

血清(浆)等液体样本：稀释合适倍数后，直接测定。

组织样本：常规匀浆处理(匀浆介质为 PBS (0.01 M, pH 7.4))。匀浆后，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

细胞样本：取 10⁶ 细胞加入 300-500 μL PBS (0.01 M, pH 7.4) 进行匀浆。匀浆后，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本最佳稀释倍数的选择

在正式检测前，需选择2-3个预期差异较大的样本稀释成不同浓度，按操作表进行预实验，以确定最佳稀释倍数。

③ 最佳样本稀释倍数的确定

本试剂盒可检测SOD抑制率范围在10%-50%之间，最佳抑制率范围25%-45%。

$$\begin{aligned}\text{SOD 抑制率}(\%) &= \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照空白}})}{A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}} \times 100\% \\ &= \frac{A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}}{A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}} \times 100\%\end{aligned}$$

④ 最佳样本稀释倍数的调整

若SOD抑制率大于50%,需将样本稀释后再测试;若SOD抑制率小于10%,减小稀释倍数后再测试。不同样本稀释比例范围如下表(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	2-4	人尿液	2-5
大鼠血清	4-6	10%小鼠肝匀浆	160-200
小鼠血清	4-6	10%绿萝匀浆	3-5
HepG2 细胞匀浆 (6.089 mgprot/mL)	15-30	10%小鼠脑匀浆	80-100

注: 稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS(0.01 M, pH 7.4)。

实验关键点

酶工作液配制完成后, 需要在 20 min 内使用。

操作步骤

- ① 对照空白孔：取 5 μL PBS（0.01 M，pH 7.4）加入到对照空白孔中。
对照孔：取 5 μL PBS（0.01 M，pH 7.4）加入到对照孔中。
测定孔：取 5 μL 样本加入测定孔中。
- ② 向步骤①中各孔加入 90 μL 试剂一应用液。
- ③ 向步骤②中的测定、对照孔中，加入 30 μL 酶工作液。
向对照空白孔中加入 30 μL 非酶工作液。
- ④ 在酶标仪上震板 10 s，盖上覆膜，37℃孵育 50 min。
- ⑤ 向步骤④中的各孔加入 180 μL 显色剂。
- ⑥ 在酶标仪上震板 10 s，室温静置 10 min，550 nm，酶标仪，测各孔吸光度值。
- 注：对照、对照空白孔分别做 2 个孔即可。

操作表

	测定孔	对照孔	对照空白孔
样本(μL)	5		
PBS（0.01 M，pH 7.4）(μL)		5	5
试剂一应用液(μL)	90	90	90
酶工作液(μL)	30	30	
非酶工作液(μL)			30
在酶标仪上震板 10 s，盖上覆膜，37℃孵育 50 min。			
显色剂(μL)	180	180	180
在酶标仪上震板 10 s，室温静置 10 min，550 nm，酶标仪，测各孔吸光度值。			

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：GBQ162)。

结果计算

血清（浆）、细胞培养液样本：

定义：每毫升反应液中 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位（U）。

$$\begin{array}{l} \text{T-SOD 活力} \\ (\text{U/mL}) \end{array} = i \div 50\% \times \frac{V_1}{V_2} \times f$$

动、植物组织样本：

定义：每毫克组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位（U）。

$$\begin{array}{l} \text{T-SOD 活力} \\ (\text{U/mgprot}) \end{array} = i \div 50\% \times \frac{V_1}{V_2} \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解：

i: SOD 抑制率，

$$\begin{array}{l} \text{SOD 抑制率} \\ (\%) \end{array} = \frac{(A_1 - A_3) - (A_2 - A_3)}{A_1 - A_3} \times 100\% = \frac{A_1 - A_2}{A_1 - A_3} \times 100\%$$

A₁: 对照孔 OD 值

A₂: 测定孔 OD 值

A₃: 对照空白孔 OD 值

V₁: 反应液总体积（mL）

V₂: 加入样本的体积（mL）

C_{pr}: 待测样本蛋白浓度（mgprot/mL）

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	2.4-61 U/mL	平均批间差	5.6 %
灵敏度	2.4 U/mL	平均批内差	5.5 %
平均回收率	105 %		

附录2 实例分析

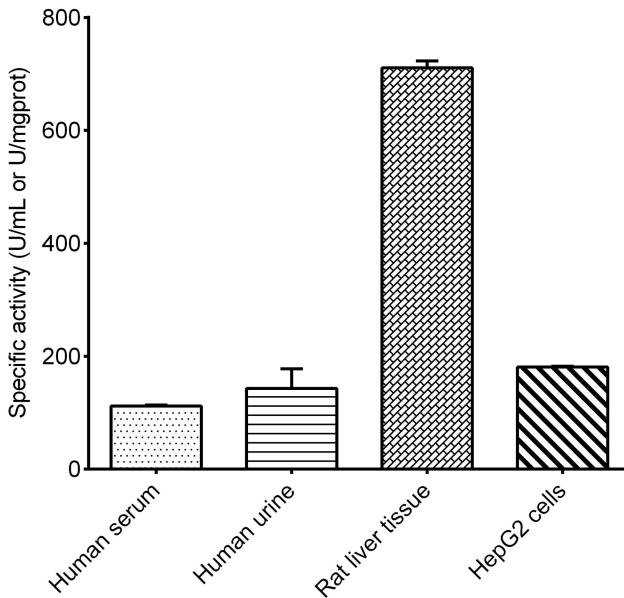
例如检测大鼠肝脏组织(数据仅供参考):

取制备好的10%大鼠肝脏匀浆,用PBS(0.01 M, pH 7.4)稀释160倍,取5 μ L稀释后样本按操作表操作,结果如下:

测定孔平均OD值为0.248,对照孔平均OD值为0.333,对照空白孔平均OD值为0.132,10%大鼠匀浆蛋白浓度为11.61 mgprot/mL,计算结果为:

$$\text{T-SOD 活力 (U/mgprot)} = \frac{(0.333 - 0.248)}{(0.333 - 0.132)} \div 50\% \times \frac{0.305}{0.005} \times 160 \div 11.61 = 711 \text{ U/mgprot}$$

按照说明书操作,测定人血清(稀释2倍,加样量5 μ L)、人尿液(稀释3倍,加样量5 μ L)、大鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量11.61 mgprot/mL,稀释160倍,加样量5 μ L)、HepG2细胞(蛋白含量6.09 mg/mL,稀释20倍,加样量5 μ L)中T-SOD活力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测值复孔差异大	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H₂O₂ generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:7.675