

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K022-S

产品规格: 50 assays(25 samples)/100 assays(50 samples)

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计 (550 nm)

Elabscience®分型超氧化物歧化酶

(CuZn-SOD/Mn-SOD) 测试盒(羟胺法)

CuZn/Mn Superoxide Dismutase (CuZn-SOD/Mn-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。

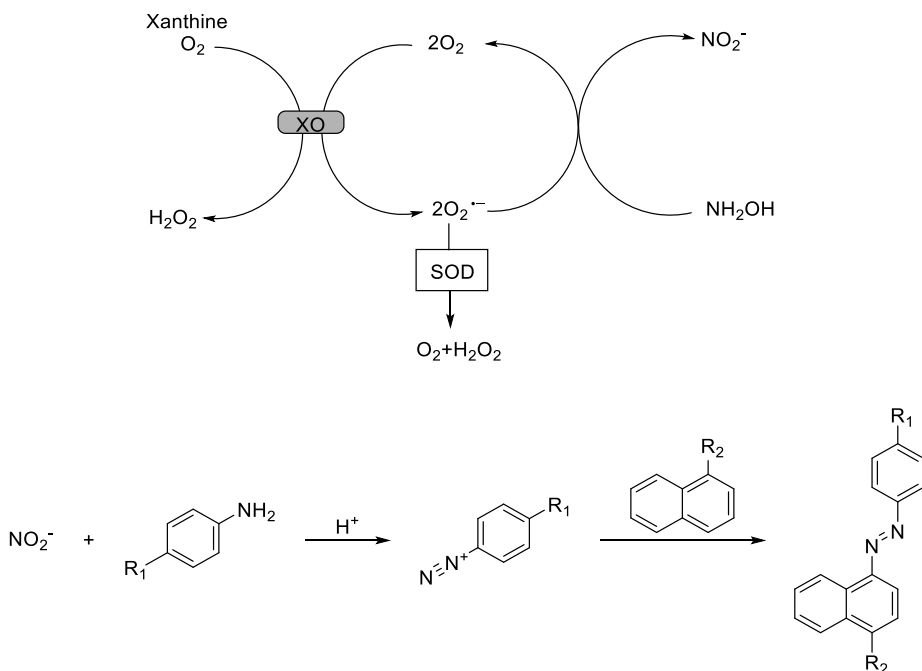
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

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、CuZn-SOD 及 Mn-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。高等生物细胞内含有有铜锌-SOD (CuZn-SOD) 和锰-SOD (Mn-SOD) 同时，经样本前处理过程的样本中 Mn-SOD 活力丧失，但 CuZn-SOD 活力不变。



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：E-BC-K318-M）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1(Size 1) (50 assays)	规格 2(Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	亚硝基发生剂 (Nitrosogenic Agent)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	基质液 (Substrate Solution)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶储备液 (Enzyme Stock Solution)	0.3 mL×1 支	0.6 mL×1 支	-20℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	酶稀释液 (Enzyme Diluent)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂八 (Reagent 8)	显色剂 C (Chromogenic Agent C)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂九 (Reagent 9)	提取液 (Extracting Solution)	12.5 mL×1 瓶	25 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同试剂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。

本试剂盒规格 1 如果只测 CuZn-SOD 可以测定 25 样；规格 2 如果只测 CuZn-SOD 可以测定 50 样。

所需自备物品

仪器：紫外-可见分光光度计（550 nm）、恒温箱、微量移液器（1000 μL ，200 μL ，100 μL ，10 μL ）、离心机。

耗材：枪头（1000 μL ，200 μL ，10 μL ）、EP管（1.5、5 mL）。

试剂：双蒸水、生理盐水(0.9%NaCl)。

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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 可保存3天。

④ 试剂六应用液配制：

将试剂六加入90 mL 70-80 $^{\circ}\text{C}$ 双蒸水中，搅拌溶解，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存3个月。

（若加热过程中水分蒸发减少，必须补双蒸水至90 mL）。

⑤ 试剂七应用液配制：

将试剂七加入90 mL双蒸水溶解，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存1个月。如果您一次用不完，可以取部分固体按1.5 mg/mL的浓度配制。

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 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

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(生理盐水 (0.9% NaCl))。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 生理盐水 (0.9% NaCl) 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 样本最佳加样量X的选择

在正式检测前，需选择2-3个预期差异较大的样本设置不同的取样量，按操作表进行预实验，以确定最佳取样量。不同样本稀释如下表（仅供参考）。

样本	稀释倍数	上样量 (μL)
小鼠血清	3-5	20-30
人血清	不稀释	30-40
大鼠血清	3-5	20-30
大鼠血浆	1-2	20-30
人胸水	不稀释	30-50
人尿液	不稀释	30-50
10%小鼠肝匀浆	50-80	20-30
10%小鼠脑匀浆	8-12	20-30
10%小鼠肾匀浆	10-20	20-30
HepG2 细胞 (3.27 mgprot/mL)	5-10	20-30

注：稀释液为生理盐水 (0.9% NaCl) 。

③ 最佳加样量确定

本试剂盒可检测SOD抑制率范围在15%-55%之间，最佳抑制率范围25%-45%，其对应的加样量为最佳加样量。

$$\text{SOD 抑制率} (\%) = \frac{A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}}{A_{\text{对照}}} \times 100\%$$

④ 最佳取样量的调整

若SOD抑制率大于55%，需将样本稀释或减少取样量后再测试；若SOD抑制率小于15%，需增加取样量后再测试。

实验关键点

① 37℃孵育时间为 40 min，当室温低于 20℃时，可适当延长孵育时间至 45 min。

② 样本与试剂九混合后的混匀要充分，保证 1 min。

操作步骤

① CuZn-SOD 上清液制备:

测定管上清液: 取 0.1 mL 样本加 0.1 mL 试剂九于 1.5 mL EP 管中, 旋涡混匀器充分混匀 1min 后, 3500 ×g 离心 15 min, 取上清进行。

对照管上清液: 取 0.1 mL 生理盐水加 0.1 mL 试剂九于 1.5 mL EP 管中, 旋涡混匀器充分混匀 1 min 后, 3500 ×g 离心 15 min, 取上清液待测。

② T-SOD 测定管: 取 1 mL 试剂一应用液, X mL 未经处理的待测样本, 加入 5 mL EP 管;

T-SOD 对照管: 取 1 mL 试剂一应用液, X mL 双蒸水, 加入 5 mL EP 管;

CuZn-SOD 测定管: 取 1 mL 试剂一应用液, X mL 测定管上清液, 加入 5 mL EP 管;

CuZn-SOD 对照管: 取 1 mL 试剂一应用液, X mL 对照管上清液, 加入 5 mL EP 管。

③ 向步骤②中各管中, 依次加入 0.1 mL 试剂二、0.1 mL 试剂三、0.1 mL 试剂四应用液。

④ 旋涡混匀后, 37°C 孵育 40 min。

⑤ 向步骤④中的各管加入 2 mL 显色剂。

⑥ 混匀, 室温静置 10 min, 550 nm 波长, 双蒸水调零, 1 cm 光径石英比色皿, 测其吸光度。

注: 如果样本的最佳取样量 X 相同, 可只做一个对照管。

操作表

	T-SOD 测定管	T-SOD 对照管	CuZn-SOD 测定管	CuZn-SOD 对照管
试剂一应用液 (mL)	1.0	1.0	1.0	1.0
样本 (mL)	X			
双蒸水 (mL)		X		
测定管上清液			X	
对照管上清液				X
试剂二 (mL)	0.1	0.1	0.1	0.1
试剂三 (mL)	0.1	0.1	0.1	0.1
试剂四应用液 (mL)	0.1	0.1	0.1	0.1
涡旋充分混匀, 37°C 孵育 40 min				
显色剂 (mL)	2.0	2.0	2.0	2.0
混匀, 室温静置 10 min, 550 nm 波长, 双蒸水调零, 1 cm 光径石英比色皿, 测其吸光度。				

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: E-BC-K318-M)。

结果计算

血清(浆)、细胞培养液等液体样本:

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)。

$$\text{T-SOD 活力 (U/mL)} = i_1 \div 50\% \times \frac{V_1}{V_2} \times f$$

$$\text{CuZn-SOD 活力 (U/mL)} = i_2 \div 50\% \times \frac{V_1}{V_2} \times f$$

组织及细胞样本:

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)。

$$\begin{aligned} \text{T-SOD 活力} \\ (\text{U/mgprot}) &= i_1 \div 50\% \times \frac{V_1}{V_2} \times f \div C_{pr} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{CuZn-SOD 活力} \\ (\text{U/mgprot}) &= i_2 \div 50\% \times \frac{V_1}{V_2} \times f \div C_{pr} \end{aligned}$$

$$\text{Mn-SOD 活力} = \text{T-SOD 活力} - \text{CuZn-SOD 活力}$$

注解:

i_1 : T-SOD 抑制率,

$$\begin{aligned} \text{T-SOD 抑制率} \\ (\%) &= \frac{(A_1 - A_2)}{A_1} \times 100\% \end{aligned}$$

i_2 : CuZn-SOD 抑制率

$$\begin{aligned} \text{CuZn-SOD 抑制率} \\ (\%) &= \frac{(A_3 - A_4)}{A_3} \times 100\% \end{aligned}$$

A_1 : T-SOD 对照管 OD 值

A_2 : T-SOD 测定管 OD 值

A_3 : CuZn-SOD 对照管 OD 值

A_4 : CuZn-SOD 测定管 OD 值

V_1 : 反应液总体积 (mL)

V_2 : 加入样本的体积 (mL)

C_{pr} : 待测样本蛋白浓度 (mgprot/mL)

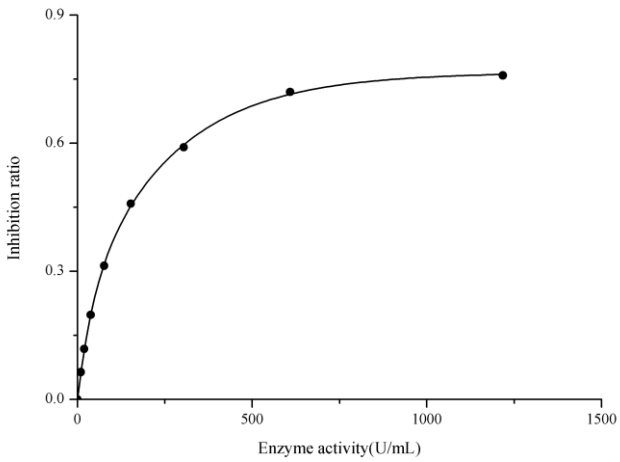
f : 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	2.03-155 U/mL	平均批间差	7.2 %
灵敏度	2.03 U/mL	平均批内差	4.0 %
平均回收率	96 %		

2. 抑制率曲线 (数据仅供参考)



附录2 实例分析

例如检测小鼠心组织(数据仅供参考):

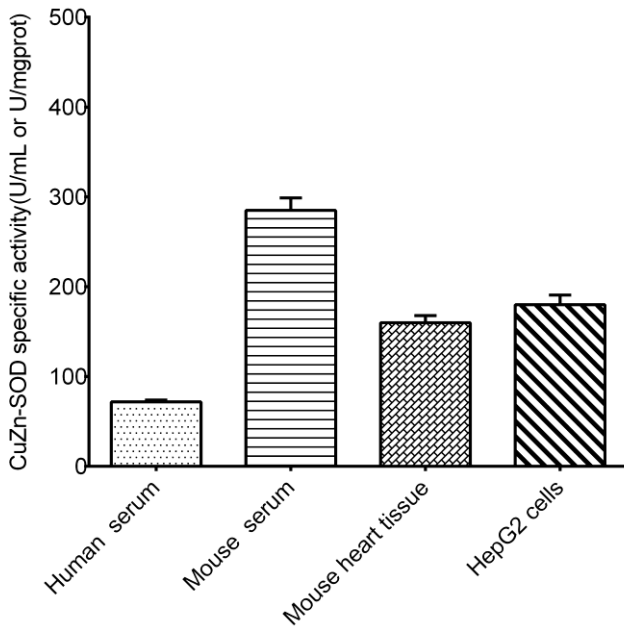
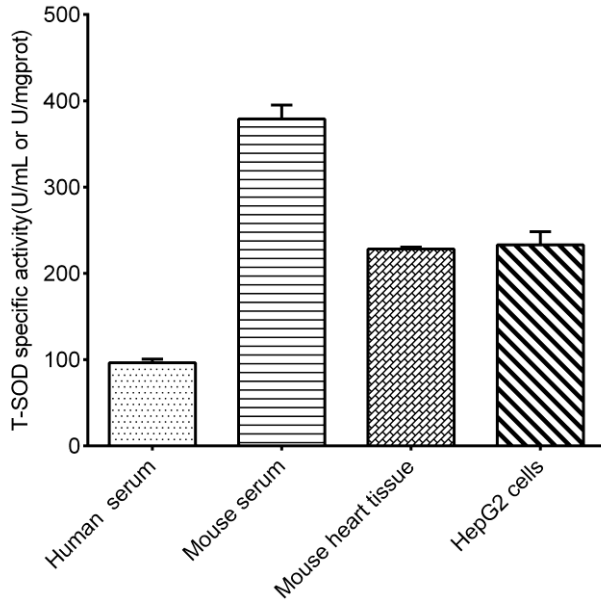
T-SOD测定: 取制备好的10%小鼠心组织, 用生理盐水(0.9%NaCl)稀释10倍, 取20 μL 稀释后样本按操作表操作, 结果如下: 测定孔平均OD值为0.252, 对照孔平均OD值为0.522, 同时测得10%小鼠心匀浆蛋白含量6.84 mgprot/mL, 则计算结果为:

$$\text{T-SOD活力 (U/mgprot)} = \left(\frac{0.522-0.252}{0.522} \right) \div 50\% \times \frac{3.02}{0.02} \times 10 \div 6.84 = 228.37 \text{ U/mgprot}$$

CuZn-SOD测定: 稀释10倍的小鼠心匀浆经试剂九处理后, 取20 μL 上清按操作表操作, 结果如下: 测定孔平均OD值为0.365, 对照孔平均OD值为0.571, 同时测得10%小鼠心匀浆蛋白含量6.84 mgprot/mL, 则计算结果为:

$$\text{CuZn-SOD活力 (U/mgprot)} = \left(\frac{0.571-0.365}{0.571} \right) \div 50\% \times \frac{3.02}{0.02} \times 10 \div 6.84 = 159.29 \text{ U/mgprot}$$

按照说明书操作, 测定人血清(加样量30 μL)、小鼠血清(稀释4倍, 加样量20 μL)、小鼠心组织(10%组织匀浆的蛋白含量6.84 mgprot/mL, 稀释10倍, 加样量20 μL)、HepG2细胞(蛋白含量3.27 mgprot/mL, 稀释10倍, 加样量25 μL)中T-SOD和CuZn-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
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
	样本加样量较低	增加加样量,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

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

11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose

- and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113
22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
 23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
 24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
 25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
 26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
 27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
 28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- β Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
 29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
 30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508