

(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-K020-M

产品规格: 48T (44 samples)/96T(92 samples)

检测仪器: 酶标仪 (440-460 nm)

## **Elabscience®总超氧化物歧化酶(T-SOD)**

### **比色法测试盒(WST-1 法)**

**Total Superoxide Dismutase (T-SOD)**

**Activity Assay Kit (WST-1 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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://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。

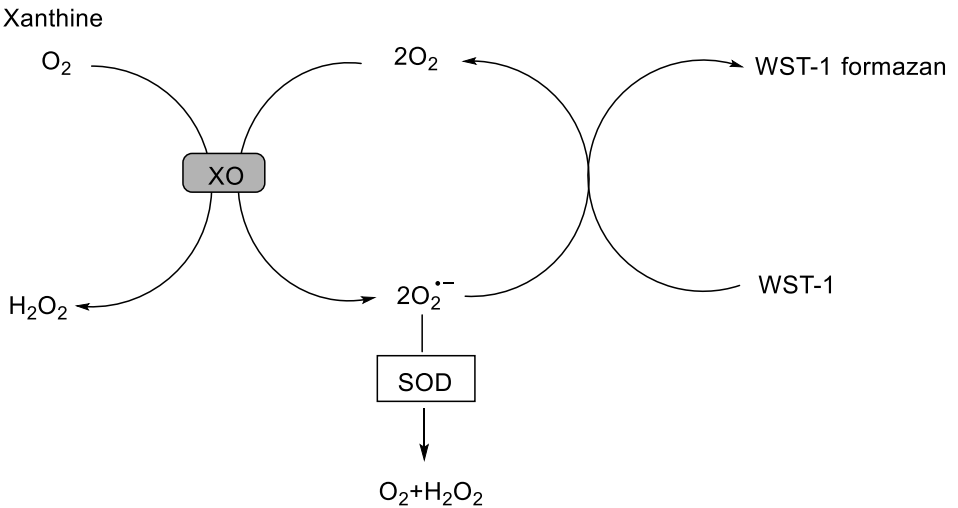
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

## 用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、胸水、腹水、尿液、细胞、各种动植物组织的 SOD 活力。

## 检测原理

WST-1 法的原理参考下图, WST-1 可以和黄嘌呤氧化酶(Xanthine Oxidase, XO)催化产生的超氧化物阴离子( $O_2^{\cdot-}$ )反应产生水溶性的甲臞染料(formazan dye), 由于 SOD 能催化超氧化物阴离子发生歧化反应, 所以该反应步骤可以被 SOD 所抑制, 因此 SOD 的活性与甲臞染料的生成量呈负相关, 通过对 WST-1 产物的比色分析即可计算 SOD 的活力。



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)。

## 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)	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物贮备液 (Substrate Solution)	0.07 mL×1 支	0.14 mL×1 支	2-8℃ 避光 保存 12 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶贮备液 (Enzyme Stock Solution)	0.15 mL×1 支	0.3 mL×1 支	-20℃ 保存 12 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶稀释液 (Enzyme Diluent)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	2-8℃ 保存 12 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	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（440-460 nm）、涡旋混匀仪、微量移液器（1000  $\mu\text{L}$ ，200  $\mu\text{L}$ ，100  $\mu\text{L}$ ，10  $\mu\text{L}$ ）、多道移液器（300  $\mu\text{L}$ ）、37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱。

**耗材：**枪头（1000  $\mu\text{L}$ ，200  $\mu\text{L}$ ，10  $\mu\text{L}$ ）、EP管（10 mL，2 mL）。

**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 试剂三从-20 $^{\circ}\text{C}$ 取出，放在冰上缓慢融化（最好分装，避免反复冻融），其它试剂平衡至室温。

② 酶工作液的配制：

冰盒上配制，按试剂三：试剂四为1: 10的体积比混匀，现用现配，未用完的试剂2-8 $^{\circ}\text{C}$ 可保存3天。

③ 底物应用液的配制：

按试剂二：试剂一为1: 200的体积比混匀，现用现配，未用完的试剂2-8 $^{\circ}\text{C}$ 可保存7天。

## 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 10<sup>6</sup> 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 样本的稀释

本试剂盒可检测SOD抑制率范围在25%-65%之间，最佳抑制率范围40%-60%，在正式检测前，需选择差异较大的2-3个样本稀释成不同浓度进行预实验，选取在最佳抑制率范围之间的稀释倍数，进行正式批量实验。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	3-5	10%大鼠心匀浆	80-100
大鼠血清	20-30	HepG2 细胞匀浆 (3 mgprot/mL)	30-40
尿液	不稀释	10%植物组织匀浆	5-10
人胸水	2	10%大鼠肾匀浆	100-120
细胞上清	2-3	10%大鼠脑匀浆	50-100
10%大鼠肝匀浆	340-370		

注：稀释液为生理盐水或PBS (0.01 M, pH 7.4)。

若 SOD 抑制率大于 65%，需将样本稀释或减少取样量后再测试；若 SOD 抑制率小于 25%，需增加取样量后再测试。

## 实验关键点

- ① 测 OD 值时，酶标板孔中不能有气泡。
- ② 底物应用液加入后立即有超氧化物生成，请用多道移液器加底物应用液以缩短时间，减少各孔间的误差。

## 操作步骤

- ① 对照孔：加 20  $\mu\text{L}$  双蒸水、20  $\mu\text{L}$  酶工作液。  
对照空白孔：加 20  $\mu\text{L}$  双蒸水、20  $\mu\text{L}$  试剂四。  
测定孔：加 20  $\mu\text{L}$  待测样本、20  $\mu\text{L}$  酶工作液。
- ② 用多道移液器向步骤①中的各孔加 200  $\mu\text{L}$  底物应用液，并小心吹打混匀。
- ③ 37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 20 min，酶标仪 450 nm 测 OD 值。

注：试剂加入酶标孔时，应触酶标板底加入；加样要慢，避免产生气泡。（气泡影响测定结果）。

## 操作表

	对照孔	对照空白孔	测定孔
待测样本( $\mu\text{L}$ )			20
双蒸水( $\mu\text{L}$ )	20	20	
酶工作液( $\mu\text{L}$ )	20		20
试剂四( $\mu\text{L}$ )		20	
底物应用液( $\mu\text{L}$ )	200	200	200
混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min，酶标仪 450 nm 测 OD 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：E-BC-K318-M)。

## 结果计算

定义：在本反应体系中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的酶量为一个 SOD 活力单位 (U)。

**SOD 抑制率的计算公式：**

$$\text{SOD 抑制率} (\%) = \frac{\Delta A_1 - \Delta A_2}{\Delta A_1} \times 100\%$$

**血清（浆）等液体样本中的 SOD 活力计算公式：**

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

**组织、细胞中 SOD 活力计算公式：**

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

**注解：**

$\Delta A_1$ ：对照孔 OD 值-对照空白孔 OD 值

$\Delta A_2$ ：测定孔 OD 值-对照空白孔 OD 值

i：SOD 抑制率 (%)

$V_1$ ：反应液总体积 (240  $\mu\text{L}$ )

$V_2$ ：加入样本的体积 (20  $\mu\text{L}$ )

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

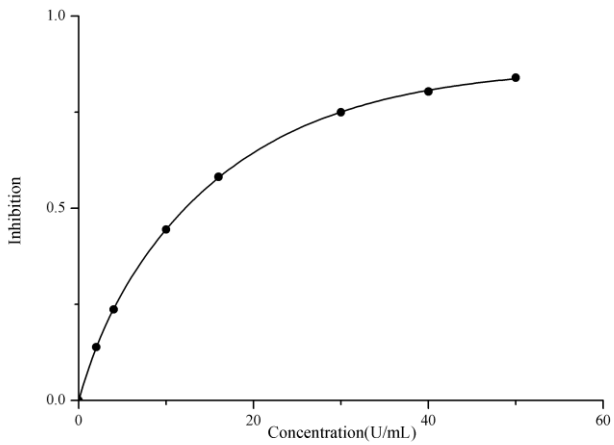
$C_{pr}$ ：样本的蛋白浓度 (mgprot/mL)

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

检测范围	0.2-14.4 U/mL	平均批间差	3.7 %
灵敏度	0.2 U/mL	平均批内差	2.9 %
平均回收率	97 %		

### 2. 标准曲线 (数据仅供参考)





## 附录2 实例分析

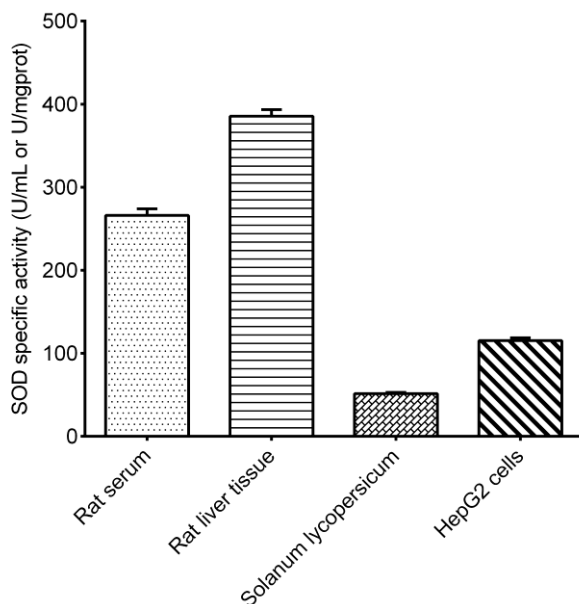
例如检测人血清(数据仅供参考):

将人血清按: PBS (0.01 M, pH 7.4) =1: 4稀释, 取0.02 mL稀释后的样本, 按操作表操作, 结果如下: 对照孔平均OD值为0.608, 对照空白孔平均OD值为0.048, 测定孔平均OD值为0.388, 计算结果为: 、

$$\text{SOD抑制率}(\%) = \frac{(0.608-0.048)-(0.388-0.048)}{(0.608-0.048)} \times 100\% = 39.29\%$$

$$\text{SOD活力}(\text{U/mL}) = 39.29\% \div 50\% \times \frac{0.24}{0.02} \times 5 = 47.15 \text{ U/mL}$$

按照操作过程, 测定大鼠血清(稀释20倍, 加样量为20  $\mu\text{L}$ )、大鼠肝组织(10%组织匀浆的蛋白含量10.67 mg/mL, 稀释360倍, 加样量为20  $\mu\text{L}$ )、西红柿(20%组织匀浆的蛋白含量2.44 mg/mL, 稀释10倍, 加样量为20  $\mu\text{L}$ )和HepG2细胞(蛋白含量3.18 mg/mL, 稀释30倍, 加样量为20  $\mu\text{L}$ )中的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
复孔差异大	板孔中存在气泡	用枪头轻轻戳破气泡
	加底物应用液时间过长	用多道移液器加底物应用液，减少各孔间误差
对照孔和测定孔不显色或显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
	酶工作液或底物应用液配制错误	严格按照说明书中试剂配制步骤重新配制酶工作液或底物应用液

#### 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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  $\alpha$  -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