

(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。

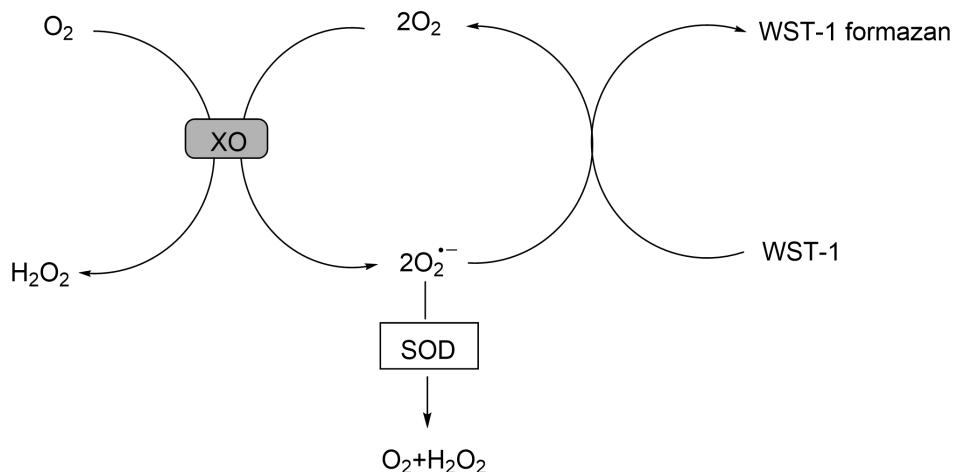
## 用途

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( $O_2^-$ )反应产生水溶性的甲臜染料(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 的活力与甲臜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。

### Xanthine



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°C 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°C 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°C 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°C 保存 12 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：试剂严格按照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，以免量取不到足夠量的试剂。

## 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  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 10  $\mu$ L）、多道移液器（300  $\mu$ L）、37°C 恒温箱。

**耗材：**枪头（1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 10  $\mu$ 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°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°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°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， $4^{\circ}\text{C}$ ， $10000 \times g$  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  $10^6$  细胞加入 300-500  $\mu\text{L}$  PBS (0.01 M, pH 7.4) 进行匀浆。匀浆后， $4^{\circ}\text{C}$ ， $10000 \times g$  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 μL 双蒸水、20 μL 酶工作液。

对照空白孔：加 20 μL 双蒸水、20 μL 试剂四。

测定孔：加 20 μL 待测样本、20 μL 酶工作液。

② 用多道移液器向步骤①中的各孔加 200 μL 底物应用液，并小心吹打混匀。

③ 37°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(μL)			20
双蒸水(μL)	20	20	
酶工作液(μL)	20		20
试剂四(μL)		20	
底物应用液(μL)	200	200	200
混匀，37°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：**

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

**组织、细胞中 SOD 活力计算公式：**

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

**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

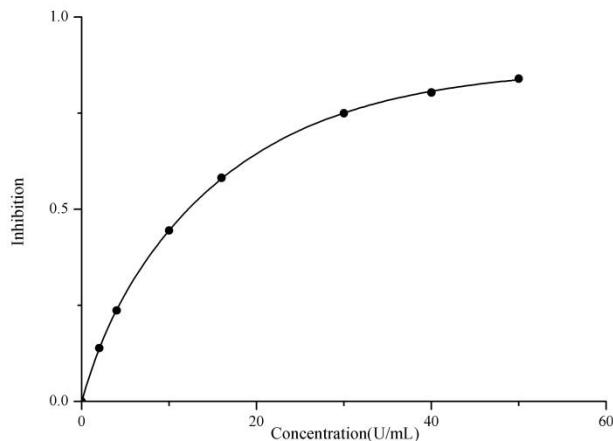
$C_{pr}$ : 样本的蛋白浓度 (mgprot/mL)

## 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

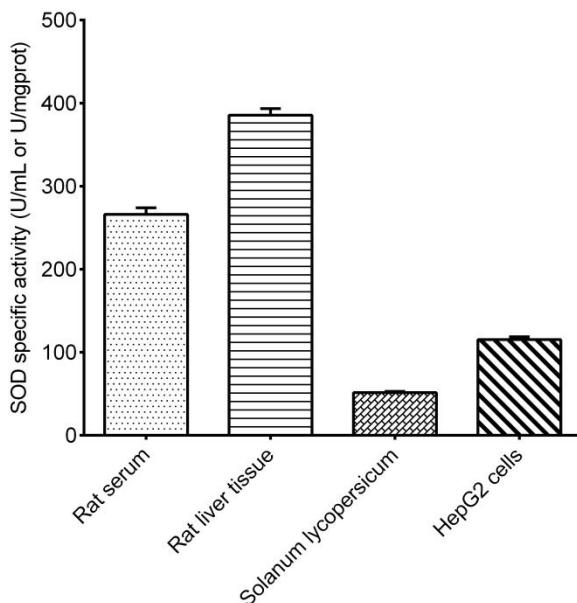
例如检测人血清(数据仅供参考):

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: 、

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

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

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. Li M , Liu J , Shi L ,et al.Gold nanoparticles-embedded ceria with enhanced antioxidant activities for treating inflammatory bowel disease[J], 023.DOI:10.1016/j.bioactmat.2023.01.015.
2. Wang Y, Liang X, Andrikopoulos N, et al. Remediation of Metal Oxide Nanotoxicity with a Functional Amyloid[J]. Advanced Science, 2024, 11(23): 2310314.
3. Wang X, Wang J, Liu S, et al. Sterilization mechanism and nanotoxicity of visible light-driven defective carbon nitride and UV-excited TiO<sub>2</sub>[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 461: 132109.
4. Wang J, Pu X, Zhuang H, et al. Astragaloside IV alleviates septic myocardial injury through DUSP1-Prohibitin 2 mediated mitochondrial quality control and ER-autophagy[J]. Journal of Advanced Research, 2024.
5. Xiao R , Liu J , Shi L ,et al.Au-modified ceria nanozyme prevents and treats hypoxia-induced pulmonary hypertension with greatly improved enzymatic activity and safety[J].Journal of nanobiotechnology, 22(1):492[2025-03-03].DOI:10.1186/s12951-024-02738-4.
6. 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-.DOI:10.1016/j.jhazmat.2021.127102.

