# 总超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒(WST-8 法)

**产品编号：MA1502　　规格：100T**

## 产品组成和保存/运输条件

| 产品组成 | MA1502-1<br>100T | 保存条件 | 有效期 | 运输条件 |
|---|---|---|---|---|
| 提取液 | 100mL | 2~8℃ | 自生产之日起<br>6 个月 | 湿冰运输<br>（按季节） |
| 试剂一 | 30mL | 2~8℃，避光 | | |
| 试剂二 | 150μL | 2~8℃，避光 | | |
| 试剂三 | 50μL | 2~8℃ | | |
| 试剂四 | 2 瓶 | 2~8℃ | | |
| 试剂五 | 1.5mL | 2~8℃ | | |
| 说明书 | 1 份 | | | |

## 产品简介

SOD（总超氧化物歧化酶）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，催化超氧化物阴离子发生歧化作用，生成 $H_2O_2$ 和 $O_2$。SOD 不仅是超氧化物阴离子清除酶，也是 $H_2O_2$ 主要生成酶，在生物抗氧化系统中具有重要作用。

总超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒(WST-8 法)即 SOD Activity Assay Kit(with WST-8)，其检测原理为：通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子($O_2^-$·)，$O_2^-$·可与 WST-8 反应产生水溶性染料甲臜，后者在 450nm 处有吸收；SOD 可清除 $O_2^-$·，从而抑制了甲臜的形成；反应液黄色越深，说明 SOD 活性越低，反之活性越高。

## 自备材料

酶标仪、低温离心机、水浴锅、移液器、96 孔板、研钵、冰和蒸馏水

## 使用方法

**1. 样品准备：**

① 细菌或细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量($10^4$ 个)：提取液体积(mL)为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000×g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

② 组织样本：按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000×g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

③ 血清（浆）样品：直接检测。

**2. 检测：**

（1）酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 450nm。

（2）**试剂三的稀释：**将试剂三用蒸馏水稀释 50 倍，**现用现配**。（试剂三和蒸馏水 1:49 稀释）

（3）**工作液的配制：**按照实际用量将试剂一和试剂二按照 20mL：0.1mL 的比例混匀配制，**现用现配**。

（4）**溶解试剂四：**将一瓶试剂四用 300μL 试剂五溶解，再加入 4.7mL 蒸馏水混匀。**溶解后需-20℃分装保存，避免反复冻融，在一周内用完**。

（5）在 EP 管或 96 孔板中按下表加样：

| 试剂（μL） | 测定孔 | 对照孔 |
|---|---|---|
| 样本 | 10 | |
| 蒸馏水 | | 10 |
| 试剂三（稀释后） | 10 | 10 |
| 工作液 | 160 | 160 |
| 试剂四 | 20 | 20 |

（6）充分混匀，室温静置 30min，于 450nm 处测定吸光值 A，分别记为 $A_{对照}$和 $A_{测定}$。

【注】① 试剂三为酶，不可冷冻，使用时在冰上放置；② 对照管只需测 1~2 次。

**3. SOD 活性计算：**

（1）抑制百分率的计算：抑制百分率＝$(A_{对照} - A_{测}) \div A_{对照} \times 100\%$

【注】尽量使样本的抑制百分率在 10%~90%范围内；如抑制百分率＜10%或＞90%，则通常需要调整加样量后重新测定；如抑制百分率偏高，则需将样本用提取液适当稀释；如抑制百分率偏低，则需重新准备浓度比较高的待测样本。

（2）SOD 酶活性单位：在上述黄嘌呤氧化酶耦联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)。

（3）SOD 酶活性计算：

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

=20×抑制百分率÷(1-抑制百分率)

② 组织、细菌或培养细胞 SOD 活力计算：

➢ 按样本蛋白浓度计算：

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

=20×抑制百分率÷(1-抑制百分率)÷Cpr

➢ 按样本鲜重计算：

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

=20×抑制百分率÷(1-抑制百分率)÷W

➢ 按细菌或细胞个数计算：

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

=0.04×抑制百分率÷(1-抑制百分率)

【注】① 按蛋白浓度计算时需要重新提取蛋白进行测定。

② $V_{反总}$：反应体系总体积，0.2mL；$V_{样}$：加入反应体系中样本体积，0.01mL；$V_{样总}$：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度(mg/mL)；W：样品质量(g)；500：细胞或细菌总数，500 万

## 注意事项

1. 正式测定前务必取 2~3 个预期差异较大的样本做预测定。
2. 待测样品-70℃可保存 1 个月。需注意反复冻融会导致 SOD 部分失活。
3. $A_{对照}$的范围一般为 0.4~1。$A_{对照}$过低的可能原因：①试剂三活性低，可以适当减少稀释倍数；②没有按照顺序加试剂；③反应时间不够，可以延长反应时间（反应时间可延长到 40min）。$A_{对照}$过高的可能是试剂三未按要求稀释相应倍数。如果出现 $A_{测定}$＞$A_{对照}$，可能是样本中杂质的影响太大，为了降低杂质的影响一般将样本提取上清液用蒸馏水或提取液稀释 10 倍后再测，计算公式中乘以相应稀释倍数即可。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅限科研实验使用，禁止用于临床、食品、化妆品等非科研场景。



大连美仑生物技术有限公司
官网:https://www.meilunbio.com/
电话/邮箱:0411-62910999 sales@meilune.com
本产品仅供科研使用