

总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1051

保存: -20°C 避光保存 12 个月

规格: 48T/48S 96T/96S

适用样本: 血清 (浆)、动植物组织、细胞、细菌、尿液

产品简介

抗氧化剂在防止自由基和其他潜在有毒氧化物质的形成和清除方面发挥着重要作用。抗氧化剂种类分为三类: 酶类 (GSH 还原酶、过氧化氢酶、过氧化物酶等)、小分子类 (抗坏血酸、尿酸、GSH、维生素 E 等) 和蛋白质类 (白蛋白、转铁蛋白等)。由于氧化应激会导致许多疾病的发展, 包括阿尔茨海默病、帕金森病、糖尿病、类风湿性关节炎和神经变性, 抗氧化剂在药理学中的应用得到了深入研究。本试剂盒提供了一种简便的比色测定法, 用于测定样本中的总抗氧化能力。其原理是在酸性环境下, 抗氧化物质还原 Fe³⁺-三吡啶三叶嗪 (Fe³⁺-TPTZ) 产生蓝色的 Fe²⁺-TPTZ, 在 593nm 测定 Fe²⁺-TPTZ 的含量, 即可获得样品中的总抗氧化能力。

产品内容

| 试剂盒组分 | 规格 | | 储存条件 |
|-------|------|-------|------------|
| | 48T | 96T | |
| 提取液 | 60mL | 120mL | 4°C 保存 |
| 试剂一 | 10mL | 20mL | 4°C 保存 |
| 试剂二 | 1mL | 2mL | -20°C 避光保存 |
| 试剂三 | 1mL | 2mL | -20°C 避光保存 |
| 阳性对照 | 1mg | 1mg | 4°C 避光保存 |

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 593nm 处的吸光度)

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器 (如果是组织样本)

试剂准备

注意: 各组分 (小管试剂) 开盖前, 请先低速离心。

液体试剂均为即用型。

阳性对照: 加入 1mL 提取液来溶解, 混匀得到母液。然后取 0.1mL 母液加到 0.9mL 提取液中混匀。浓度是 0.1mg/mL, 4°C 保存。

工作液的配制: 临用前配制, 将试剂一、试剂二、试剂三按 10:1:1 的比例混合, 现配现用。

样本制备

动物组织: 称取 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液, 冰浴匀浆, 转移到 1.5mL EP 管中, 10,000g, 4°C 离心 10min, 取上清液于新离心管中, 置冰上检测。

植物组织: 称取 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液捣碎, 冰浴超声波破碎 5min (功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 重复 30 次), 转移到 1.5mL EP 管中, 10,000g, 4°C 离心 10min, 取上清液于新离心管中, 置冰上检测。

产品说明书

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），转移到 1.5mL EP 管中，10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

血清、血浆或尿样：直接检测。

注意：1. 推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

2. 不能用 EDTA 作为血浆样品的抗凝剂。样品中也不能含有 DTT、巯基乙醇、Tween、Triton 和 NP-40 等去垢剂和 DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的还原剂。

3. 如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 593nm，可见光分光光度计去离子水调零。

2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

| 试剂名称 | 空白孔 (μL) | 测定孔 (μL) | 阳性孔 (μL) |
|------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 去离子水 | 10 | 0 | 0 |
| 样本 | 0 | 10 | 0 |
| 阳性对照 | 0 | 0 | 10 |
| 工作液 | 180 | 180 | 180 |

3. 充分混匀，室温反应 5min，于 593nm 测定吸光值，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ （空白孔只需做 1 个）

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果 $A_{\text{测定}}$ 大于 1.5，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

1. 总抗氧化能力计算标准曲线公式： $y=4.4664x+0.0685$, $R^2 = 0.9986$ ，其中 y 为 Fe^{2+} 终浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)， x 为吸光值差值 ΔA ，将 $\Delta A_{\text{测}}$ 带入标准曲线公式，求得 y ($\mu\text{mol/mL}$)。

2. 样本中总抗氧化能力计算：

单位定义：样本的抗氧化能力以达到同样吸光度变化值 (ΔA) 所需的标准液 Fe^{2+} 离子浓度 ($\mu\text{mol/mL}$) 表示。

(1) 按样本鲜重计算

总抗氧化能力 ($\mu\text{mol/g}$ 鲜重) = $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times n = y \div W \times n$

(2) 按样本蛋白浓度计算

总抗氧化能力 ($\mu\text{mol/mg prot}$) = $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times n = y \div C_{\text{pr}} \times n$

(3) 按细胞或细胞数量计算

总抗氧化能力 ($\mu\text{mol}/10^4 \text{ cells}$) = $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \times n = y \div \text{细胞数量} \times n$

(4) 按液体体积计算

总抗氧化能力 ($\mu\text{mol/mL}$) = $y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = y \times n$

$V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 0.01 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; W : 样品质量, g; n : 样本稀释倍数; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL; 细胞数量: 以 10^4 为单位。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1052 羟自由基清除能力检测试剂盒（微量法）

PMK1036 超氧化物歧化酶（SOD）检测试剂盒（微量法）

PMK1038 过氧化物酶（POD）检测试剂盒（微量法）

PMK1041 黄嘌呤氧化酶（XO）检测试剂盒（微量法）

产品说明书

PMK1037 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1061 超氧阴离子清除能力检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

