

总氧化状态 (TOS) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1889

保存: 4°C 避光保存 12 个月

规格: 48T/48S 96T/96S

适用样本: 血清 (浆)、尿液、动植物组织、细胞、细菌

产品简介

总氧化状态 (TOS) 是指生物体内所有抗氧化物质与氧化物质的动态平衡状态。TOS 反映了生物体内氧化应激的水平, 是评估氧化损伤和抗氧化能力的重要指标。本试剂盒提供了一种简单易用的方法, 用于测量各种生物样本的 TOS。原理是在酸性条件下, 样本中的氧化性物质可将二价铁离子氧化为三价铁离子, 后者与二甲酚橙结合产生一种蓝紫色的复合物, 在 580nm 有最大吸收峰。通过测定 580nm 吸光度变化可以间接测定样本的总氧化状态。

产品内容

| 试剂盒组分 | 规格 | | 储存条件 |
|--|--------|--------|----------|
| | 48T | 96T | |
| 提取液 | 50mL | 100mL | 4°C |
| 显色物 | 2. 5mL | 5mL | 4°C 避光保存 |
| H ₂ O ₂ 标准品 (1M) | 0. 1mL | 0. 1mL | 4°C 避光保存 |

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计 (能测 580nm 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

恒温箱、离心机、制冰机

去离子水

匀浆器 (如果是组织样本)

10kDa 的超滤管 (用来去除蛋白)

试剂准备

注意: 各组分 (小管试剂) 开盖前, 请先低速离心。

提取液: 即用型; 4°C 保存。

显色物: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 整个实验过程中, 避光放置; 4°C 避光保存。

H₂O₂标准品 (1M): 即用型; 使用前, 平衡到室温; 整个实验过程中, 避光放置; 4°C 避光保存。

标准曲线设置:

先配制 2mM H₂O₂标准品: 取 2 μL H₂O₂标准品 (1M) 加 998 μL 提取液稀释;

再配制 800 μM H₂O₂标准品: 取 200 μL 2mM 的 H₂O₂标准品加入 300 μL 提取液稀释。

使用 800 μM H₂O₂标准品, 按照下表所示, 进一步稀释标准品。

| | 标准品体积 | 提取液体积 (μL) | 标准品浓度 (μM) |
|--------|--------------------------|------------|------------|
| Std. 1 | 400μL of 800 μM | 0 | 800 |
| Std. 2 | 200μL of Std. 1 (800 μM) | 200 | 400 |
| Std. 3 | 200μL of Std. 2 (400 μM) | 200 | 200 |

产品说明书

| | | | |
|--------|-------------------------------------|-----|------|
| Std. 4 | 200 μ L of Std. 3 (200 μ M) | 200 | 100 |
| Std. 5 | 200 μ L of Std. 4 (100 μ M) | 200 | 50 |
| Std. 6 | 200 μ L of Std. 5 (50 μ M) | 200 | 25 |
| Std. 7 | 200 μ L of Std. 6 (25 μ M) | 200 | 12.5 |

注意：每次实验，请使用新配制的标准品；配制好的标准品需要在4h之内使用；如果样本是细胞悬浮液，建议使用培养基配制H₂O₂标准品。

样本制备

动植物组织：称取0.1g组织，加入1mL预冷的提取液，冰上匀浆。12,000g, 4℃离心10min，取上清液待测。

细胞和细菌样本的制备：收集5×10⁶个细胞或细菌，用冷PBS清洗细胞或细菌后弃上清，加入1mL预冷的提取液冰上匀浆。12,000g, 4℃离心10min，取上清液待测。

血清、血浆、尿液（和其它生物学液体）：直接测定。

为了消除蛋白可能造成的干扰，可以对处理好的样本进行去除蛋白的处理。

去除蛋白的方式：使用10kDa的超滤管过滤后取滤液。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存6个月。如下物质会干扰检测结果，样本中应避免存在：Ferric salts, iron salts, sucrose, glucose, ascorbic acid, SDS (>0.2%), sodium azide。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热30min以上，调节波长到580nm，可见分光光度计用去离子水调零。

2. 在96孔板或微量玻璃比色皿中按照如下方式加样：

| 试剂(μL) | 空白孔 | 标准孔 | 测定孔 |
|--------|-----|-----|-----|
| 提取液 | 60 | 0 | 0 |
| 标准品 | 0 | 60 | 0 |
| 样本 | 0 | 0 | 60 |
| 显色物 | 40 | 40 | 40 |

3. 充分混匀，37℃孵育10min，读取580nm处的吸光值，记为A_空、A_标、A_测，计算 $\Delta A_{\text{标}}=A_{\text{标}}-A_{\text{空}}$ 、 $\Delta A_{\text{测}}=A_{\text{测}}-A_{\text{空}}$ （空白孔只需测定1次）。

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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于0.005可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于0.5，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

1. 标准曲线的绘制 以标准液浓度为y轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为x轴，绘制标准曲线（浓度为y轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测}}$ 代入公式计算出y(1 μ M=1nmol/mL)。

2. 样本TOS计算

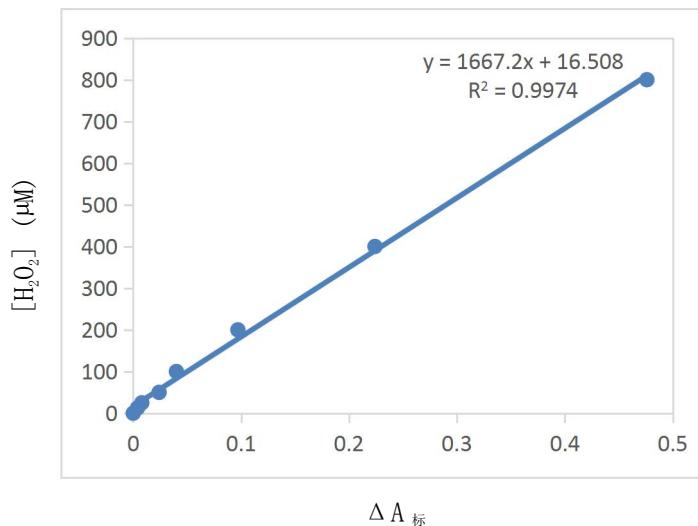
(1) 按样本鲜重计算 TOS(nmol H₂O₂/g 鲜重)=y×V_样÷(W×V_样÷V_{样总})×n=y÷W×n

(2) 按样本体积计算 TOS(nmol H₂O₂/mL)=y×V_样÷V_样×n=y×n

(3) 按细胞或细菌数量计算 TOS(nmol H₂O₂/10⁴ Cell)=y×V_样÷(细胞或细菌数量×V_样÷V_{样总})×n=y÷500×n
V_样: 加入样本体积, 0.06mL; W: 样本质量, 0.1g; V_{样总}: 样本制备时加入提取液体积, 1mL; n: 样本稀释倍数; 500: 细胞或细菌数量, 500万。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



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：

- PMK1036 超氧化物歧化酶（SOD）检测试剂盒（微量法）
PMK1037 过氧化氢酶（CAT）检测试剂盒（微量法）
PMK1038 过氧化物酶（POD）检测试剂盒（微量法）
PMK1049 超氧阴离子检测试剂盒（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：