

# 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/96T

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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 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。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 标准品: 取 2 μL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 标准品 (1M) 加 998 μL 提取液稀释;

再配制 200 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 标准品: 取 50 μL 2mM 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 标准品加入 450 μL 提取液稀释。

使用 200 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 200 μM          | 0          | 200        |
| Std. 2 | 200μL of Std. 1 (200 μM) | 200        | 100        |
| Std. 3 | 200μL of Std. 2 (100 μM) | 200        | 50         |

## 产品说明书

|        |                                      |     |      |
|--------|--------------------------------------|-----|------|
| Std. 4 | 200 $\mu$ L of Std. 3 (50 $\mu$ M)   | 200 | 25   |
| Std. 5 | 200 $\mu$ L of Std. 4 (25 $\mu$ M)   | 200 | 12.5 |
| Std. 6 | 200 $\mu$ L of Std. 5 (12.5 $\mu$ M) | 200 | 6.25 |
| Std. 7 | 200 $\mu$ L of Std. 6 (6.25 $\mu$ M) | 200 | 3.13 |

**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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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  $5 \times 10^6$  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 ( $\mu$ L) | 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  $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$ 、 $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{空}$ （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  $\Delta A_{测}$  小于 0.005 可适当加大样本量。如果  $\Delta A_{测}$  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

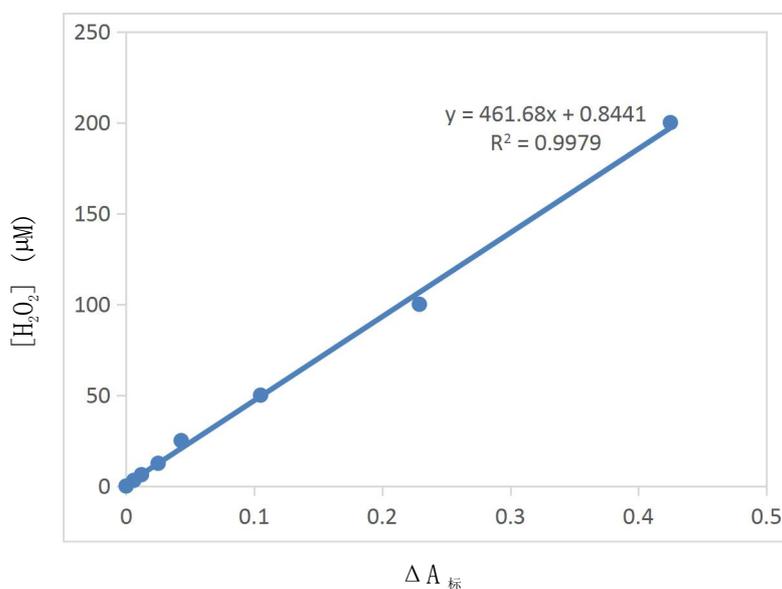
1. 标准曲线的绘制 以标准液浓度为 y 轴， $\Delta A_{标}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将  $\Delta A_{测}$  代入公式计算出 y (1 $\mu$ M=1nmol/mL)。

#### 2. 样本 TOS 计算

- (1) 按样本鲜重计算 TOS (nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/g 鲜重) =  $y \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = y \div W \times n$
  - (2) 按样本体积计算 TOS (nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/mL) =  $y \times V_{样} \div V_{样} \times n = y \times n$
  - (3) 按细胞或细菌数量计算 TOS (nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/10<sup>4</sup> Cell) =  $y \times V_{样} \div (细胞或细菌数量 \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = y \div 500 \times n$
- $V_{样}$ : 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安全规定进行实验，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)
- PMK1041 黄嘌呤氧化酶 (XO) 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：