

总氧化状态（TOS）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1889

保存：4℃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℃
显色物	2.5mL	5mL	4℃避光保存
H ₂ O ₂ 标准品(1M)	0.1mL	0.1mL	4℃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℃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℃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℃避光保存。

标准曲线设置：

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

再配制200μM H₂O₂标准品：取50μL 2mM的H₂O₂标准品加入450μL提取液稀释。

使用200μM 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 200μM	0	200
Std.2	200μL of Std.1 (200μM)	200	100
Std.3	200μL of Std.2 (100μM)	200	50

产品说明书

Std. 4	200 μ L of Std. 3 (50 μ M)	200	25
Std. 5	200 μ L of Std. 4 (25 μ M)	200	12.5
Std. 6	200 μ L of Std. 5 (12.5 μ M)	200	6.25
Std. 7	200 μ L of Std. 6 (6.25 μ 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 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 5×10^6 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 (μ 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 μ M=1nmol/mL)。

2. 样本 TOS 计算

(1) 按样本鲜重计算 TOS (nmol H₂O₂/g 鲜重) = $y \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = y \div W \times n$

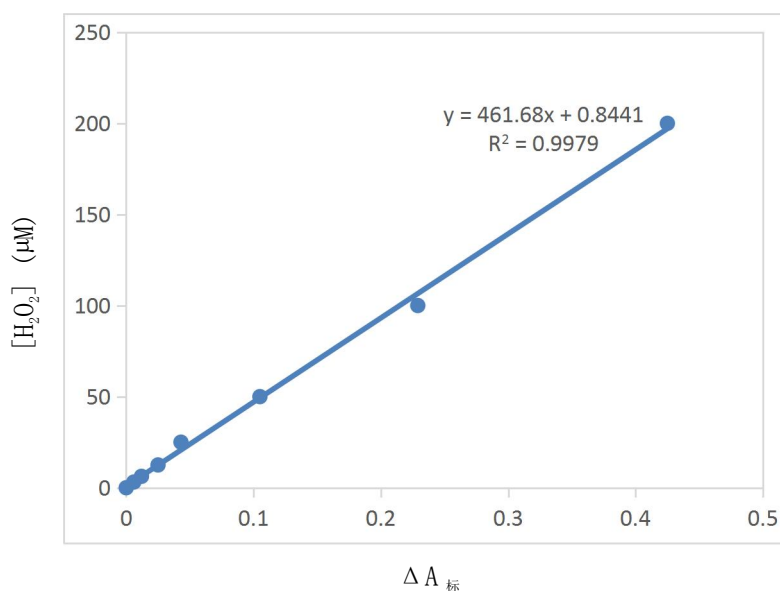
(2) 按样本体积计算 TOS (nmol H₂O₂/mL) = $y \times V_{样} \div V_{样} \times n = y \times n$

(3) 按细胞或细菌数量计算 TOS (nmol H₂O₂/10⁴ 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：