

总氧化状态(TOS)检测试剂盒(可见分光光度法)

产品货号: BA3412

产品规格: 50T/48S

产品简介:

总氧化状态(Total Oxidant Status, TOS)是用于评估生物体内氧化应激水平的重要指标,可通过量化生物样本中氧化剂分子的总浓度来反映氧化应激的程度。总氧化状态的评估有助于更好地理解氧化应激在各种疾病中的作用机制,并为相关疾病的预防和治疗提供科学依据。

样本中氧化物质能够将Fe²⁺氧化为Fe³⁺,Fe³⁺进一步与二甲酚橙反应生成蓝紫色络合物,产物在560nm处具有特征吸收峰,通过吸光值变化即可表征样本的总抗氧化状态。

产品内容:

产品	名称	规格	保存条件	使用说明及注意事项
提耳	又液	液体60mL×1瓶	2-8°C	-
试剂		液体50mL×1瓶	2-8°C	-
试剂	17	液体3mL×1瓶	2-8°C	使用后应注意及时密封保存 (避免试剂长时间在空气中暴露)
标》	主液	液体1mL×1支	2-8°C	100μmol/mL H2O2标准液

标准应用液的制备(现用现配): 使用前将100μmol/mL H2O2标准液使用蒸馏水梯度稀释至0.04μmol/mL即为标准应用液。

序号	1	2	3	4
稀释前浓度(µmol/mL)	100	10	1.0	0.1
标准液体积(μL)	100	100	100	400
蒸馏水体积(μL)	900	900	900	600
稀释后浓度(μmol/mL)	10	1.0	0.1	0.04

产品使用说明:

测定过程中所需要的仪器和试剂:可见分光光度计、1mL玻璃比色皿(光径10mm、狭缝3mm、体积1.05mL)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

- 1. 样本处理(可根据预实验结果适当调整样本量及比例)
- (1) 组织:按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:(5-10)的比例(建议称取 0.1g 组织,加入 1mL 提取液处理样品,冰浴匀浆, $4^{\circ}C$ 12000g 离心 10min,取上清置于冰上待测。
- (2) 细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内,按照细菌或细胞数量(10⁴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)处理样品,冰浴超声破碎(功率200W,超声3s,间隔10s,总时间3min),4°C12000g离心10min,取上清置于冰上待测。
- (3) 血清(浆)、培养液等液体样本:直接检测或适当稀释后再进行检测。
- 2. 测定步骤
- (1) 分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 560nm,蒸馏水调零。
- (2) 试验前将试剂一置于 25°C 预热 15min 以上。
- (3) 在离心管中依次加入下列试剂:





试剂	测定管(μL)	标准管(μL)	空自管(μL)					
待测样本	150	-	-					
标准应用液	-	150	-					
蒸馏水	-	-	150					
试剂一	800	800	800					
①充分混匀,将反应液置于1mL玻璃比色皿中;								
②测定560nm处吸光值;								
③记为A1测定、A1标准和A1空白;								
④测定完成后将反应液转移至原离心管中;								
试剂二	50	50	50					
①充分混匀,37℃恒温准确反应5min;								
②立即将反应液置于1mL玻璃比色皿中;								
③测定560nm处吸光值;								
④记为A2测定、A2标准和A2空白。								

注:标准管和空白管只需测定1-2次;37°C反应结束后应立即测定吸光值,样本较多时建议分批加入试剂二,反应结束后立即测定吸光值。

计算: ΔA 测定=(A2测定-A1测定)-(A2空白-A1空白), ΔA 标准=(A2标准-A1标准)-(A2空白-A1空白)。

- 3. 总氧化状态(TOS)计算
- (1) 单位定义

总氧化状态(TOS)单位以过氧化氢当量 μ mol H2O2 Equiv.表示,即样本总氧化状态达到同样吸光值变化所需的标准品浓度(μ mol/mL)。

- (2) 总氧化状态(TOS)计算公式
- ① 按组织蛋白浓度计算

TOS(μmol H2O2 Equiv./mg prot) =
$$\frac{C \text{ 标x}\Delta A \text{ 测定xD}}{\text{Cprx}\Delta A \text{ 标准}} = \frac{0.04 \times \Delta A \text{ 测定xD}}{\text{Cprx}\Delta A \text{ 标准}}$$

② 按组织样本质量计算

TOS(
$$\mu$$
mol H2O2 Equiv./ g) = $\frac{C \, k \times \Delta A \, im \hat{z} \times V \, k \hat{z} \times D}{W \times \Delta A \, k / k} = \frac{0.04 \times \Delta A \, im \hat{z} \times D}{W \times \Delta A \, k / k}$

③ 按细菌或细胞数量计算

TOS(
$$\mu$$
mol H2O2 Equiv./ 10^4 cell) = $\frac{\text{C} \, k \times \Delta \text{A} \, \text{测定} \times \text{V} \, \text{样总} \times \text{D}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta \text{A} \, \text{标准}} = \frac{0.04 \times \Delta \text{A} \, \text{测定} \times \text{D}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta \text{A} \, \text{标准}}$

④ 按液体样本体积计算

TOS(μmol H2O2 Equiv./mL) =
$$\frac{C \, k \times \Delta A}{\Delta A} \, k = \frac{0.04 \times \Delta A}{$$

注释: C标: 标准应用液浓度, $0.04\mu mol/mL$; V样总: 待测样本总体积,1mL; Cpr: 样本蛋白浓度,mg/mL; W: 样本质量,g; 细菌或细胞数量: 以万计; D: 待测样本稀释倍数,若未稀释即为1; ΔA测定= (A2测定-A1测定) - (A2空白-A1空白); ΔA标准= (A2标准-A1标准) - (A2空白-A1空白)。

注意事项:

- 1. 待测样本制备后应当天完成测定,切勿长时间低温保存;
- 2. 为保证结果准确且避免试剂损失,测定前请仔细阅读说明书(以实际收到说明书内容为准),确认试剂储存和准备是否充分,操作步骤是否清楚,且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定,过程中问题请您及时与工作人员联系。

