

过氧化物检测试剂盒 (200T)

产品说明

过氧化物（如过氧化氢 H₂O₂）是分子氧代谢产生的活性氧类，可作为细胞内信使和氧化应激来源。细胞可通过多种机制产生过氧化氢，如嗜中性粒细胞和巨噬细胞（呼吸爆发）中由 NOX 介导的 ROS 形成过程，或在线粒体呼吸的电子泄漏过程中由超氧阴离子歧化酶生成。异常生成的过氧化氢会引起细胞氧化损伤和一些疾病进程，如哮喘、动脉粥样硬化、骨质疏松和神经退行性病变。本公司研制的过氧化物检测试剂盒可直接用于生物样品的检测，免除了预处理过程。检测原理是利用试剂中的 Fe²⁺ 被样品中的过氧化物氧化为 Fe³⁺，并能与二甲酚橙反应生成紫色复合物的特性，在波长 585nm 检测，其颜色深浅程度与样品中过氧化物的含量成正比。通过配方的改良，充分减小了未处理的样品中其它杂质的干扰。检测范围在 0.4 – 100 μM。

适用范围

可直接检测血清、血浆、尿液、细胞培养液中过氧化物含量。

试剂盒组成与保存

试剂 A: 1 mL	4°C 保存
试剂 B: 40 mL	4°C 保存
标准品: 1 mL 3% H ₂ O ₂	4°C 保存

检测步骤

样本处理：一些化学成分会干扰检测，在样本准备时要避免接触，这类物质包括：抗坏血酸、乙二胺四乙酸、肝磷脂、二甲基亚砷 (>0.02%)，三硝基苯酚(>0.6%)，SDS(>0.12%)，氨基丁三醇(>8mM)和乙醇(>0.4%)。新鲜的样品可以立即用于检测，或在-20°C 下保存，不要反复冻融。如果样品出现颗粒，应离心后取上清进行检测。

试剂准备：检测前所有试剂须放置至室温。准备反应试剂，按试剂 A：试剂 B = 1：100 的比例配制足量反应试剂。

1. 标准品：标准品应在检测前现配，在1.5mL 的离心管中混合10 μL3%的双氧水和990μL纯水。再取混合后的溶液5μL 与1465μL纯水混合，最终的双氧水的浓度为30 μM(标注“预混液”)，按下表比例将其稀释：

标号	预混液+水	体积(μL)	浓度(μM)
1	100μL+0μL	100	30
2	80μL+20μL	100	24
3	60μL +40μL	100	18
4	40μL+60μL	100	12
5	30μL+70μL	100	9
6	20μL+80μL	100	6
7	10μL+90μL	100	3
8	0μL+100μL	100	0

GYHW200

2. 将稀释后的标准品和样品各取 40 μL ，放入透明平底 96 孔板不同孔中。取 200 μL 反应试剂加入所有标准品孔和样品孔中。
3. 室温下反应 30 分钟，在 585nm 处读取吸光度，注：若极少数情况下加入试剂后产生沉淀，可将反应液转入 1.5 毫升的离心管，14,000rpm 离心 2 分钟，再小心移取 200 μL 上清液至一干净孔，读 OD 值，乘以 1.2 校正体积因素。

浓度计算

用标准品 OD 值减去空白对照(标号 8)OD 值，以此值对双氧水浓度作标准曲线。

样品：用样品(OD 值)减去空白对照(OD 值)，以此 OD 差值对照标准曲线，得出样品过氧化物的浓度。

注意事项： 本产品仅供研究用，使用过程中应严格遵循实验安全措施。