

组织及血液过氧化氢 (H₂O₂) 活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHA1-C24	组织及血液过氧化氢 (H ₂ O ₂) 含量测定试剂盒	24T	常量法
AYHA1-C48		48T	

一、测定意义:

过氧化氢 (H₂O₂) 是一种活性氧代谢副产品, 是许多氧化应激相关状态的关键调节因子。通过 NF- κ B 和其他因子发挥作用, 过氧化氢介导的途径与哮喘、炎症性关节炎、动脉粥样硬化、糖尿病血管病变、骨质疏松、神经退行性疾病、唐氏综合征和免疫系统疾病有关。

二、测定原理:

过氧化氢与钼酸铵作用下生成稳定的络合物, 在 405nm 处测定其生成量可计算出过氧化氢的量。

三、试剂组成:

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂一	液体 40mL×1 瓶	液体 80mL×1 瓶	室温保存
试剂二	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	4℃ 保存
标准品	液体 1mL×1 支	液体 1mL×1 支	4℃ 保存
50μmol/mL H₂O₂ 标准应用液 的配制: 临用时按 H ₂ O ₂ 标准贮备液: 双蒸水=1:19 的比例稀释, 现用现配。			

四、操作步骤:

样本前处理

1、细菌、细胞或组织样本的制备

a、细菌或培养细胞: 收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 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), 超声波破碎细菌或细胞 (功率 200w, 超声 3 秒, 间隔 10 秒, 重复 30 次); 8000g 4℃ 离心 10 分钟, 取上清, 置冰上待测。

b、组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5-10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃ 离心 10 分钟, 取上清, 置冰上待测。

2、血清 (浆) 样本: 直接检测。

测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 405nm, 蒸馏水调零。

2、测定前将试剂恢复至常温。

3、操作表

试剂名称	空白孔	标准孔	测定孔	对照孔
双蒸水 (mL)	0.05	-	-	-

标准品应用液(mL)	-	0.05	-	-
样本(mL)	-	-	0.05	0.05
试剂一(mL)	0.5	0.5	0.5	1.0
试剂二(mL)	0.5	0.5	0.5	-
充分混匀，静置 5min，于 405nm 处，双蒸水调零仪测定各管吸光度值。				

五、过氧化氢含量计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量 } (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = \frac{\text{测定管 OD 值} - \text{对照管 OD 值}}{\text{标准管 OD 值} - \text{空白管 OD 值}} \times \text{标准品浓度} \div \text{蛋白浓度}$$

(2) 按样本鲜重计算

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量 } (\mu\text{mol}/\text{g}) = \frac{\text{测定管 OD 值} - \text{对照管 OD 值}}{\text{标准管 OD 值} - \text{空白管 OD 值}} \times \text{标准品浓度} \div \frac{\text{样本重量}}{\text{提取液体积}}$$

六、注意事项：

- 1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本，稀释成不同浓度进行预试，以选取最佳取样浓度；
- 2、若样本颜色不明显，对照管可以不做，用空白管代替。
- 3、若测定孔OD值减去对照孔OD值高于 0.5 时，可将样本用提取液进行稀释，计算时乘以相应的稀释倍数即可；若测定孔OD值减去对照孔OD值低于 0.01 时，可以增加样本取样量或者取样浓度。
- 4、试剂二为饱和溶液，可能会存在晶体析出。操作时吸取上清液即可。