

## 组织及血液过氧化氢（H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>）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-M48	组织及血液过氧化氢（H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ）含量测定试剂盒	48T	微量法
AYHA1-M96		96T	

### 一、测定意义：

过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)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-kappaB 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（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 120mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂一	液体 12mL×1 瓶	液体 40mL×1 瓶	室温保存
试剂二	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	4℃ 保存
标准品	液体 1mL×1 支	液体 1mL×1 支	4℃ 保存

**50μmol/mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 标准应用液**的配制：临用时按 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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（10<sup>4</sup> 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)	0.01	-	-	-
标准品应用液(mL)	-	0.01	-	-
样本 (mL)	-	-	0.01	0.01
试剂一 (mL)	0.1	0.1	0.1	0.2
试剂二 (mL)	0.1	0.1	0.1	-
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。