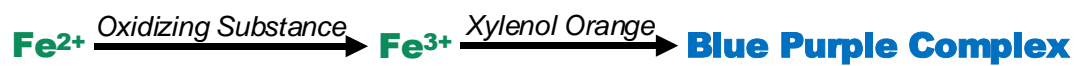




总氧化状态 (TOS) 检测试剂盒
Total Oxidant Status (TOS) Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



总氧化状态 (TOS) 检测试剂盒

Total Oxidant Status (TOS) Assay Kit

一、产品描述

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。

样本中氧化物能够将 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} , Fe^{3+} 进一步与二甲酚橙反应生成蓝紫色络合物, 产物在 560 nm 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。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 1.2 mL×1 瓶	4°C 保存	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)
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	100 $\mu\text{mol/mL}$ H_2O_2 标准液
标准应用液的制备 (现用现配): 使用前将 100 $\mu\text{mol/mL}$ H_2O_2 标准液使用蒸馏水梯度稀释至 0.04 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准应用液。			

序号	1	2	3	4
稀释前浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	100	10	1.0	0.1
标准液体积 (μL)	100	100	100	200
蒸馏水体积 (μL)	900	900	900	300
稀释后浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	10	1.0	0.1	0.04

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 10 min，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（ 10^4 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 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，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酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 560 nm。

②试验前将试剂一置于 25℃ 预热 15 min 以上。

③在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
待测样本	30	-	-
标准应用液	-	30	-
蒸馏水	-	-	30
试剂一	160	160	160

①充分混匀，测定 560 nm 处吸光值；

②记为 A1 测定、A1 标准和 A1 空白；

试剂二	10	10	10
-----	----	----	----

①充分混匀，37℃ 恒温准确反应 5 min；

②立即测定 560 nm 处吸光值；

③记为 A2 测定、A2 标准和 A2 空白；

注：标准组和空白组只需测定 1-2 次；37℃ 反应结束后应立即测定吸光值，样本较多时建议分批测定，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

3.1 单位定义

总氧化状态 (TOS) 单位以过氧化氢当量 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv.}$ 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 ($\mu\text{mol/mL}$)。

3.2 总氧化状态 (TOS) 计算公式

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./mg prot}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}} = \frac{0.04 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./g}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}} \times D}{W \times \Delta A_{\text{标准}}} = \frac{0.04 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./}10^4 \text{ cell}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}} \times D}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}} = \frac{0.04 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./mL}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}}} = \frac{0.04 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

注释: C 标: 标准应用液浓度, $0.04 \mu\text{mol/mL}$; V 样总: 待测样本总体积, 1 mL; 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; $\Delta A_{\text{测定}} = (A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}) - (A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}})$; $\Delta A_{\text{标准}} = (A2_{\text{标准}} - A1_{\text{标准}}) - (A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}})$ 。

四、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。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

