

过氧化氢 (H₂O₂) 含量测定试剂盒

(货号: SH3008 酶标法 96T)

一、产品简介

过氧化氢 (H₂O₂) 是生物体内最常见的活性氧分子, 也是许多氧化应激反应中的关键调节因子。一方面, H₂O₂ 可以直接或间接地氧化细胞内核酸、蛋白质等生物大分子, 使细胞膜遭受损害, 加速细胞的衰老和解体; 另一方面, H₂O₂ 也是活性氧相互转化的枢纽。

二、检测原理

本试剂盒检测原理: 在过氧化物酶 (POD) 催化下, 过氧化氢氧化并与显色底物反应, 生成红色产物, 在 510 nm 波长处有特征吸收峰。在特定浓度范围内, 吸光度值与过氧化氢含量成正比。

三、试剂盒组分与规格

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 1mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 1mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	液体×1 支	4℃保存	若需要做标曲, 则用到该试剂

四、所用到的仪器和用品

酶标仪、台式低温离心机、可调式移液器、96 孔板、匀浆器、冰。

五、过氧化氢 (H₂O₂) 含量测定

正式实验前务必选取 2-3 个预期差异较大的样本做测定, 了解本批样本情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备

①组织样本: 称取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 在 4℃ 12000g 离心 10min, 取上清待测。

【注】若增加样本量, 可以按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

②细菌/细胞样本: 先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 (10^4 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 1mL 提取液), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000g 4℃ 离心 10min, 取上清待测。

③液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测

①酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 510nm。

②在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	100	
试剂一	80	180
试剂二	10	10
试剂三	10	10
立即混匀, 室温 (25℃) 静置 5min 后, 在 510nm 处测吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

六、结果计算

1、根据标准曲线, 计算 ΔA 对应的 H_2O_2 浓度 C (单位为 $\mu\text{mol/mL}$)。例如本说明书中的标准曲线为 $y = 0.0129x + 0.0065$, 则 $C = (\Delta A - 0.0065) / 0.0129$ 。

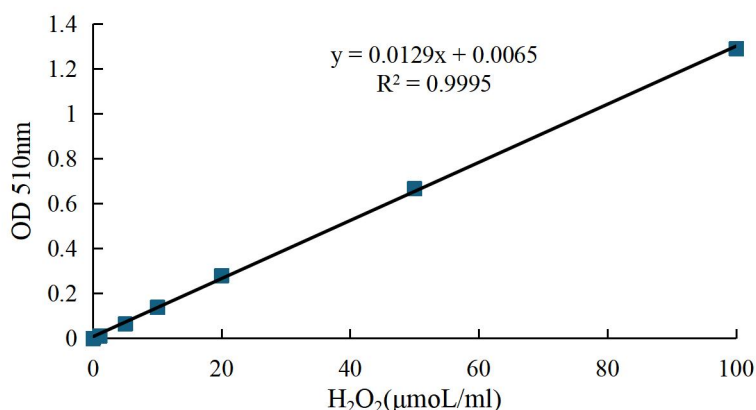


图 1 H_2O_2 测定试剂盒的标准曲线效果图, 图中数据仅供参考。

2、按照样本鲜重计算:

$$H_2O_2 \text{ 含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) = C \times V_1 \div (W \times V_1 \div V) \times D$$

3、按照细菌或细胞数量计算:



$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量}(\mu\text{mol}/10^4\text{cell}) = C \times V1 \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

4、按照液体体积计算：

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量}(\mu\text{mol}/\text{mL}) = C \times D$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.1mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；

七、标准曲线制作

- 1、制备标准品母液（200 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ）：临用前取出 10 μL 标准品溶解在 0.49mL 水中，充分混匀（现配现用）。
- 2、把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0，0.1，0.2，0.4，0.8，1.6 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 。也可以根据实际样本来调整校准品浓度。
- 3、依据测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。