

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：E-BC-K801-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(650-670 nm)

Elabscience®总抗氧化状态(TAS)比色法测试盒

Total Antioxidant Status (TAS) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于血清(浆)、尿液、动植物组织、细胞上清样本中总抗氧化状态(TAS)测定。

检测原理

ABTS 在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的 $ABTS^+$ ，在抗氧化物存在时 $ABTS^+$ 被还原成无色的 ABTS，测定 $ABTS^+$ 在 660 nm 波长下吸光度变化即可测定并计算出样本中的总抗氧化状态。Trolox 是一种维生素 E 的类似物，具有和维生素 E 相近的抗氧化状态，用作总抗氧化状态的参考物质。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	15 mL×1 瓶	30 mL×1 瓶	-20°C保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	5 mL×1 瓶	5 mL×1 瓶	-20°C避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	2 mmol/L 标准品 (2 mmol/L Standard)	2 mL×1 瓶	4 mL×1 瓶	-20°C避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(检测波长范围 650-670 nm，最佳检测波长 660 nm)

试剂：60%乙醇溶液

试剂准备

- ① 检测前，试剂平衡至室温。
- ② 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.4	0.8	1.2	1.4	1.6	1.8	2
2 mmol/L 标准品(μ L)	0	40	80	120	140	160	180	200
60%乙醇(μ L)	200	160	120	80	60	40	20	0

样本准备

① 样本处理

血清样本：可直接测定。

组织样本：匀浆介质为 60%无水乙醇。

样本要求：样本中不能添加 SDS、Tween、Triton 和 NP-40 等去污剂，不能添加 DTT、2-巯基乙醇等还原性物质。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.23-2 mmol Trolox Equiv./L，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肝组织	不稀释	人尿液	8-10
10%大鼠肝组织	不稀释	小鼠血清	不稀释
10%大鼠肺组织	不稀释	人血清	不稀释
Molt4 细胞上清	不稀释	人唾液	不稀释

注：稀释液为 60%乙醇。

实验关键点

- ① 加入试剂二时需用移液枪反复吸打，保证显色体系混匀。
- ② 待测样本加入酶标板时，触底加入。

操作步骤

- ① 测定孔：向酶标板中相应的测定孔加入 10 μL 待测样本。
标准孔：向酶标板相应的标准孔中加入 10 μL 不同浓度标准品。
- ② 向步骤①各孔中加入 200 μL 的试剂一。
- ③ 酶标仪于 660 nm 处检测各孔吸光度，记为 A_1 。
- ④ 向步骤③中各孔加入 20 μL 试剂二，反复吸打 5-6 次。
- ⑤ 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 5 min，酶标仪于 660 nm 处，检测各孔吸光度，记为 A_2 ，
则 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

操作表

	标准孔	测定孔
待测样本(μL)	--	10
不同浓度标准品(μL)	10	--
试剂一(μL)	200	200
酶标仪于 660 nm 处检测各孔吸光度，记为 A_1		
试剂二(μL)	20	20
反复吸打 5-6 次，37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 5 min，酶标仪于 660 nm 处，检测各孔吸光度，记为 A_2 ，则 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。		

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

组织匀浆样本总抗氧化状态计算公式 (以 Trolox 作为总抗氧化状态参考物质):

$$\text{TAS} \\ \text{mmol Trolox Equiv. /kg wet weight} = (\Delta A_{\text{空}} - \Delta A_{\text{样}} - b) \div a \div \frac{m}{V} \times f$$

生物体液样本中总抗氧化状态计算公式:

$$\text{TAS} \\ \text{mmol Trolox Equiv. /L} = (\Delta A_{\text{空}} - \Delta A_{\text{样}} - b) \div a \times f$$

注解:

y: 空白孔 ΔA 值(标准品浓度为 0 时的孔)-标准品 ΔA 值

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

$\Delta A_{\text{样}}$: 测定孔 ΔA 值(测定孔 OD 值 $A_2 - A_1$)

$\Delta A_{\text{空}}$: 空白孔 ΔA 值(标准品浓度为 0 的孔)

m: 组织样本重量(g)

V: 匀浆液加入体积(mL)

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

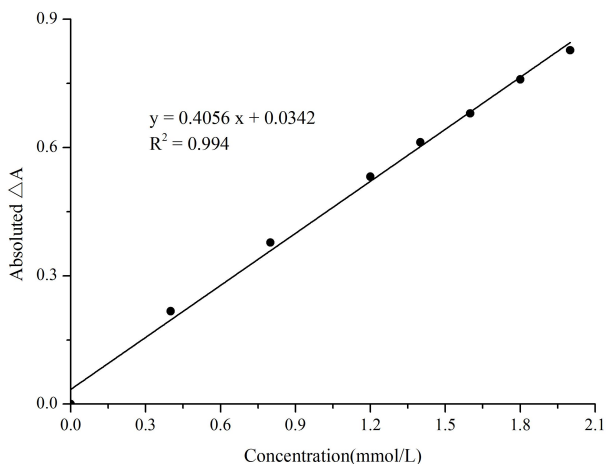
检测范围	0.23-2 mmol Trolox Equiv. /L	平均批间差	7.0 %
灵敏度	0.23 mmol Trolox Equiv. /L	平均批内差	4.6 %
平均回收率	99 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量10 μL，按照操作步骤进行实验，读取各点OD值如下表所示：

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.4	0.8	1.2	1.4	1.6	1.8	2
A ₁	0.033	0.033	0.034	0.035	0.034	0.035	0.036	0.035
	0.034	0.036	0.033	0.035	0.034	0.035	0.035	0.036
A ₂	1.223	1.013	0.850	0.718	0.613	0.547	0.462	0.394
	1.235	1.013	0.853	0.680	0.622	0.555	0.481	0.413
ΔA=A ₂ -A ₁	1.190	0.980	0.816	0.682	0.579	0.512	0.427	0.359
	1.201	0.976	0.820	0.645	0.588	0.520	0.446	0.377
平均ΔA 值	1.196	0.978	0.818	0.664	0.583	0.516	0.436	0.368
变化ΔA 值	0.000	0.217	0.378	0.532	0.612	0.680	0.759	0.827

②绘制标曲(如下图)：



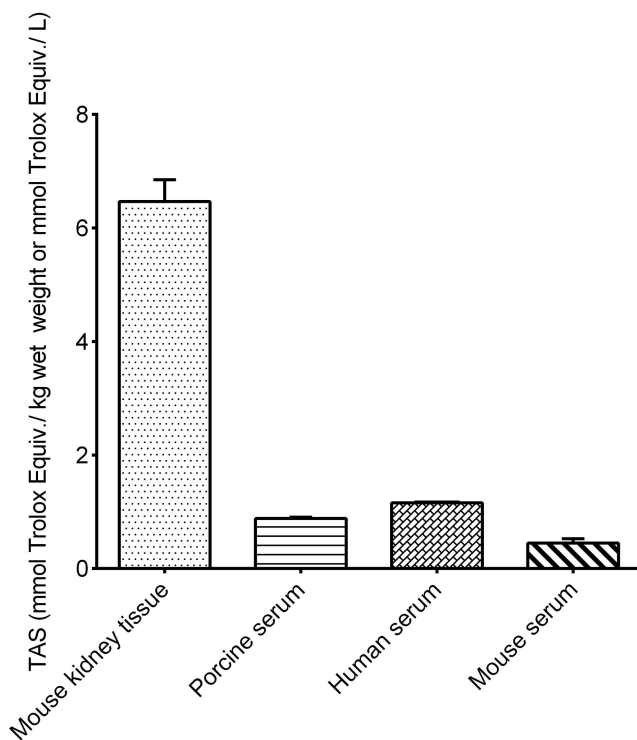
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取人血清样本,按说明书进行测定,结果如下:样本测定孔 A_1 : 0.08, 样本测定孔 A_2 : 0.777, $\Delta A_{\text{样}}=A_2-A_1=0.697$, 空白孔 ΔA 值: 1.196, 标准品拟合曲线: $y = 0.4056x + 0.0342$, 待测样本总抗氧化状态计算结果为:

$$\text{TAS} \\ \text{mmol Trolox Equiv. / L} = (1.196 - 0.697 - 0.0342) \div 0.4056 = 1.14 \text{ mmol Trolox Equiv. / L}$$

按照说明书操作,测定10%小鼠肾组织匀浆(稀释4倍,加样量10 μL)、人血清(加样量10 μL)、小鼠血清(加样量10 μL)和猪血清(加样量10 μL)中总抗氧化状态(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录3 客户发表文献

1. Guler A , Yilmaz A , Oncer N ,et al.Machine learning-assisted SERS approach enables the biochemical discrimination in Bcl-2 and Mcl-1 expressing yeast cells treated with ketoconazole and fluconazole antifungals[J].*Talanta*, 2024, 276:IF:6.1
2. Oi-Jurjevi B , Borkovi-Miti S , Pavlovi S ,et al.Lemon Flavonoid Extract Eriomin Improves Pro/Antioxidant Status and Interferes with Cholesterol Metabolism without Affecting Serum Cholesterol Levels in Aged Rats[J].*International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(10).
3. Prvulovic M , Pavlovic S , Mitic S B ,et al.Mitigating the effects of time in the heart and liver: The variable effects of short- and long-term caloric restriction[J].*Mechanisms of Ageing and Development*, 2024, 222.
4. Kara M , Sahin S , Rabbani F ,et al.An in vitro analysis of an innovative standardized phospholipid carrier-based *Melissa officinalis* L. extract as a potential neuromodulator for emotional distress and related conditions[J].*Frontiers in Molecular Biosciences*, 2024.DOI:10.3389/fmolb.2024.1359177.
5. Khan A .In Vitro Mechanistic Studies of a Standardized Sustainable Grape Seed Extract for Potential Application as a Mood-Modulating and Cognition-Enhancing Supplement[J].*Nutrients*, 2024, 16.DOI:10.3390/nu16203459.

