

(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-K102-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(402-407 nm)

Elabscience®过氧化氢 (H₂O₂) 比色法测试盒

Hydrogen Peroxide (H₂O₂) 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

本试剂盒适用于检测血清、血浆、尿液、动植物组织及细胞样本中的 H_2O_2 含量。

检测原理

H_2O_2 与钼酸铵反应生成稳定的黄色络合物且在 405 nm 处有最大吸收，黄色络合物的颜色深浅与 H_2O_2 的浓度在一定范围内具有线性关系。故可以通过比色计算出 H_2O_2 的含量。

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法（货号：E-BC-K168-M）。

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)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	钼酸铵试剂 (Ammonium Molybdate Reagent)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	1 mol/L H_2O_2 标准品 (1 mol/L H_2O_2 Standard)	1 mL×1 支	1 mL×2 支	2-8℃ 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（402-407 nm，最适检测波长 405 nm）、涡旋混匀仪、37℃恒温箱、微量移液器（1000 μL ，200 μL ，100 μL ，10 μL ）、离心机。

耗材：枪头（1000 μL ，200 μL ，10 μL ）、EP 管（2 mL、10 mL）。

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

试剂准备

- ① 实验开始前将所有试剂平衡至室温。
- 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	10	20	40	60	80	100	125
1 mol/L 标准品 (μL)	0	10	20	40	60	80	100	125
双蒸水 (μL)	1000	990	980	960	940	920	900	875

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本：可直接测定。

组织样本：常规匀浆处理(生理盐水(0.9% NaCl溶液)或PBS(0.01 M, pH 7.4)。匀浆后，4℃，10000 ×g离心10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

细胞样本：取10⁶细胞加入300 μL生理盐水(0.9% NaCl溶液)或PBS(0.01 M, pH 7.4)进行匀浆。匀浆后，4℃，10000 ×g离心10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

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：0.41-125 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	细胞匀浆	不稀释
大鼠血清	不稀释	10%植物组织	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%大鼠心组织	不稀释
小鼠血浆	不稀释	10%大鼠脑组织	不稀释
猪血清	不稀释	10%大鼠肾组织	不稀释
人尿液	不稀释	10%大鼠肝组织	不稀释

注：稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS(0.01 M, pH 7.4)。

实验关键点

- ①不同浓度过氧化氢标准品现配现用；
- ②测定 OD 值时，酶标板孔中不能有气泡。

操作步骤

- ① 向标准孔、测定孔中均加入 100 μL 试剂一。
- ② 37°C条件下预热 10 min。
- ③ 标准孔：取 15 μL 不同浓度标准品，加入到对应的标准孔中；
样本孔：取 15 μL 待测样本，加入到对应的样本孔中。
- ④ 向③中各孔加入 100 μL 试剂二。
- ⑤ 酶标仪上振荡 5 s，静置 10 min，酶标仪 405 nm 处，测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔
试剂一 (μL)	100	100
37°C 预热 10 min		
不同浓度标准品 (μL)	15	--
待测样本 (μL)	--	15
试剂二 (μL)	100	100
酶标仪上震荡 5 s，静置 10 min，酶标仪 405 nm 处，测定各孔 OD 值。		

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法（货号：E-BC-K168-M）。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清(浆)、尿液中 H_2O_2 浓度计算公式:

$$\begin{aligned} H_2O_2 \text{ 浓度} \\ (\text{mmol/L}) \end{aligned} = (\Delta A_{405} - b) \div a \times f$$

组织、细胞中 H_2O_2 浓度计算公式:

$$\begin{aligned} H_2O_2 \text{ 浓度} \\ (\text{mmol/gprot}) \end{aligned} = (\Delta A_{405} - b) \div a \div C_{pr} \times f$$

注解:

ΔA_{405} : 样本测定 OD 值-空白 OD 值 (标准品浓度为 0 时的 OD 值)

f: 样本加入检测体系之前的稀释倍数

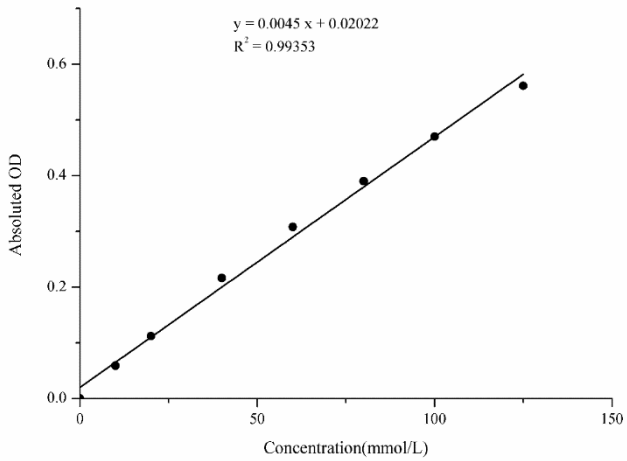
C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度 (gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.41-125 mmol/L	平均批间差	3.6%
灵敏度	0.41 mmol/L	平均批内差	3.2%
平均回收率	105%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



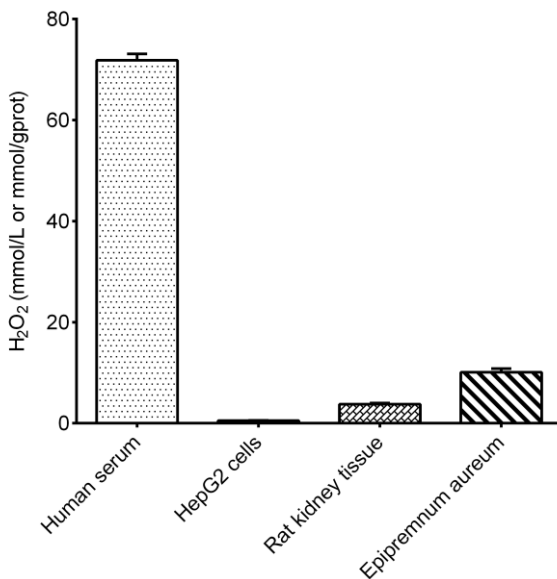
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取15 μL 人血清,按操作标检测,结果如下: H_2O_2 的标准曲线: $y = 0.0047x + 0.0223$,测定孔平均OD值为0.435,空白OD值为0.075,计算结果为:

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 浓度 (mmol/L)} = (0.435 - 0.075 - 0.0223) \div 0.0047 \times 1 = 71.85 \text{ mmol/L}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量15 μL)、细胞匀浆(蛋白含量5.00 gprot/L,加样量15 μL)、大鼠肾脏组织(10%组织匀浆,蛋白含量6.57 gprot/L,加样量15 μL)、绿萝(10%组织匀浆,蛋白含量0.99 gprot/L,加样量15 μL)中 H_2O_2 含量(如下图)



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本测不出值	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本, 重新检测
样本测量结果 >125 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数, 重新检测
标准品的值较小	过氧化氢部分分解	使用前对过氧化氢的实际浓度进行校准

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4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H₂O₂ generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675

11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose

- and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113
22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
 23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
 24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
 25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
 26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
 27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
 28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- β Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
 29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
 30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508