

(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-K136-S

产品规格：50 assays(25 samples)/100 assays(50 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计 (520 nm)

Elabscience®总抗氧化能力(T-AOC)比色法测试盒

Total Antioxidant Capacity (T-AOC)

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（浆）、唾液、尿液、组织、细胞等样本中的总抗氧化能力。

检测原理

机体中有许多抗氧化物质，能使三价铁离子还原成二价铁离子，后者可与菲啉类物质形成稳固的橙红色络合物，通过比色可测出其抗氧化能力高低。

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 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	铁盐储备液 (Ferric Salt Stock Solution)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	铁盐稀释液 (Ferric Salt Diluent)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	终止剂 (Stop Solution)	24 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	澄清剂 (Clarificant)	24 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月

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：紫外-可见分光光度计（520 nm）

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 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液配制：

取一支试剂二加入120 mL双蒸水，搅拌加热至80-90°C，完全溶解后，冷却至室温备用。

③ 试剂三工作液配制：

将试剂三：试剂四以1:19的体积比稀释，现用现配。

④ 试剂六若凝固，使用前在37°C放置溶解直至澄清方可使用。

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本：可直接测定。

组织或细胞样本：匀浆介质是 PBS (0.01 M, pH 7.4)，匀浆离心后取上清进行测定，留取部分上清测蛋白。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，结合本试剂盒的检测范围 (0.62-145.2 U/mL)，选取最佳稀释倍数，进行正式批量实验。不同样本的稀释比例范围如下表（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肝匀浆	不稀释	猪血清	不稀释
10%小鼠肺匀浆	不稀释	大鼠血浆	不稀释
人唾液	不稀释	HepG2 细胞	不稀释
人血清	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

样本处理离心后的上清液一定要澄清，若有浑浊须再次离心。

操作步骤

血清（浆）、培养细胞的上清

- ① 测定管和对照管：各取 1.0 mL 试剂一，加入 5 mL EP 管中；
- ② 向测定管加入 A mL 样本，对照管不加。
- ③ 向测定管和对照管依次加入 2.0 mL 试剂二工作液、0.5 mL 试剂三工作液。
- ④ 充分混匀，37°C 孵育 30 min。
- ⑤ 向测定管和对照管加入 0.1 mL 试剂五。
- ⑥ 向对照管加入 A mL 样本，测定管不加。
- ⑦ 充分混匀，室温静置 10 min，波长 520 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。

操作表

	测定管	对照管
试剂一 (mL)	1.0	1.0
样本 (mL)	A	--
试剂二工作液 (mL)	2.0	2.0
试剂三工作液 (mL)	0.5	0.5
充分混匀，37°C 孵育 30 min		
试剂五 (mL)	0.1	0.1
样本 (mL)	--	A
充分混匀，室温静置 10 min，波长 520 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度		

注：A 为参考取样量；血清（浆）A=0.1 mL。

组织、细胞样本

- ① 测定管和对照管：各取 1.0 mL 试剂一，加入 5 mL EP 管中；
- ② 向测定管加入 A mL 样本，对照管不加。
- ③ 向测定管和对照管依次加入 2.0 mL 试剂二工作液、0.5 mL 试剂三工作液。
- ④ 充分混匀，37°C 孵育 30 min。
- ⑤ 向测定管和对照管加入 0.2 mL 试剂五。
- ⑥ 向对照管加入 A mL 样本，测定管不加。
- ⑦ 向测定管和对照管加入 0.2 mL 试剂六。
- ⑧ 充分混匀，室温静置 10 min，波长 520 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。

操作表

	测定管	对照管
试剂一 (mL)	1.0	1.0
样本 (mL)	A	--
试剂二工作液 (mL)	2.0	2.0
试剂三工作液 (mL)	0.5	0.5
旋涡混匀仪充分混匀，37°C 孵育 30 min		
试剂五 (mL)	0.2	0.2
样本 (mL)	--	A
试剂六 (mL)	0.2	0.2
充分混匀，室温静置 10 min，波长 520 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度		

注：A 为参考取样量；10% 组织匀浆 A=0.1-0.2 mL。

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 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

结果计算

全血、血清（浆）等液体样本：

定义：在 37°C 时，每分钟每毫升或每毫克蛋白样本，使反应体系的吸光度值每增加 0.01 时为一个总抗氧化能力单位。

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力} &= \frac{\Delta A}{0.01} \div 30^* \times \frac{V_1}{V_2} \times f \\ (\text{U/mL}) \end{aligned}$$

组织、细胞样本：

定义：在 37°C 时，每分钟每毫克蛋白样本，使反应体系的吸光度值每增加 0.01 时为一个总抗氧化能力单位。

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力} &= \frac{\Delta A}{0.01} \div 30^* \times \frac{V_1}{V_2} \times f \div C_{\text{pr}} \\ (\text{U/mgprot}) \end{aligned}$$

注解：

ΔA ：样本的绝对 OD 值（测定 OD 值-对照 OD 值）

*：反应时间 30 min

V_1 ：反应液总体积（mL）

V_2 ：加入样本的体积（mL）

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

C_{pr} ：待测样本蛋白浓度（mgprot/mL）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.62-145.2 U/mL	平均批间差	8.2 %
灵敏度	0.62 U/mL	平均批内差	2.7 %
平均回收率	105 %		

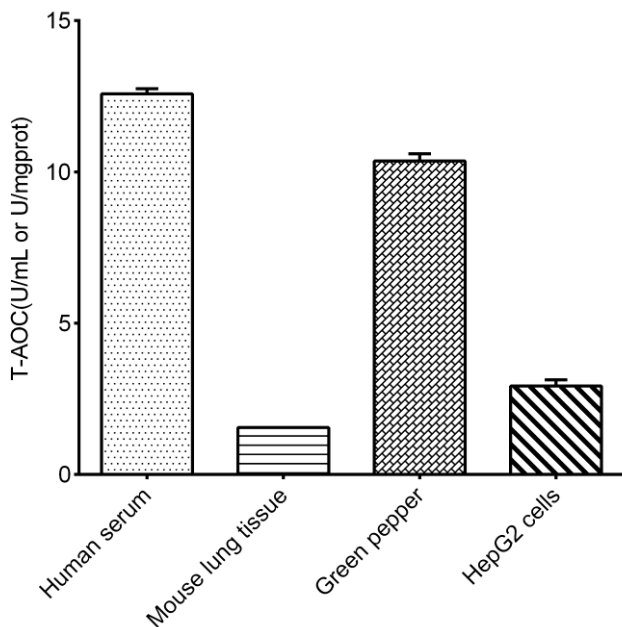
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取0.1 mL人血清,按操作表操作,结果如下:测定管平均OD值为0.140,对照管平均OD值为0.038,计算结果为:

$$\text{总抗氧化能力 (U/mL)} = \frac{0.140-0.038}{0.01} \div 30 \times \frac{3.7}{0.1} = 12.58 \text{ U/mL}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量0.1 mL)、小鼠肺组织(10%组织匀浆的蛋白含量5.88 mg/mL,加样量0.1 mL)、青椒组织(10%组织匀浆的蛋白含量2.73 mg/mL,加样量0.1 mL)和HepG2细胞(蛋白含量0.88 mg/mL,加样量0.1 mL)的总抗氧化能力:



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测值不稳定, 复孔差异大	微量移液器使用不熟练	小心加样, 避免液体溅到其它测样管中
	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数, 重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本, 重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长
样本测量结果 > 145.2 U/mL	样本浓度太高	选择合适稀释倍数, 重新检测

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

