

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: GBQ117

产品规格: 48T(24 samples)/96T(48 samples)

检测仪器: 酶标仪(500-520 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）、全血、动植物组织、细胞及细胞上清中的总抗氧化能力（T-AOC）。

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：GBQ162）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48T)	规格 2 (Size 2)(96T)	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°C 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°C避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	铁盐储备液 (Ferric Salt Stock Solution)	0.2 mL×1 支	0.4 mL×1 支	2-8°C避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	铁盐稀释液 (Ferric Salt Diluent)	4 mL×1 瓶	8 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	终止剂 (Stop Solution)	1.25 mL×1 支	1.25 mL×2 支	2-8°C 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	澄清剂 (Clarificant)	1.25 mL×1 支	1.25 mL×2 支	2-8°C 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	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（500-520 nm，最适检测波长 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20 mL双蒸水加热溶解。冷却后使用，2-8℃保存7天。

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，2-8℃保存2天。

④ 试剂六若凝固，使用前37℃水浴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个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，不同样本稀释比例如下表（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	人尿液	1-2
10%大鼠肝脏匀浆	不稀释	HepG2 细胞上清	不稀释
10%绿萝组织	不稀释	HepG2 细胞	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 组织或细胞样本处理时，离心后的上清液必须澄清。若有浑浊须将浑浊上清转移至新的离心管，再次离心。
- ② 样本反应完以后尽量在 25 min 内完成检测。

操作步骤

血清（浆）、培养细胞的上清

- ① 测定管和对照管：各取 100 μL 试剂一，加入 1.5 mL EP 管中。
- ② 向测定管加入 10 μL 样本，对照管不加。
- ③ 向测定管和对照管依次加入 200 μL 试剂二工作液、50 μL 试剂三工作液。
- ④ 充分混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。
- ⑤ 向测定管和对照管加入 10 μL 试剂五。
- ⑥ 向对照管加入 10 μL 样本，测定管不加。
- ⑦ 充分混匀，室温静置 5 min，取 300 μL 到酶标板中，波长 520 nm，测定各孔 OD 值。

操作表

	测定管	对照管
试剂一(μL)	100	100
样本(μL)	10	--
试剂二工作液(μL)	200	200
试剂三工作液(μL)	50	50
充分混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min		
试剂五(μL)	10	10
样本(μL)	--	10
充分混匀，室温静置 5 min，取 300 μL 到酶标板中，波长 520 nm，测定各孔 OD 值。		

组织、细胞样本

- ① 测定管和对照管：各取 100 μL 试剂一，加入 1.5 mL EP 管中。
- ② 向测定管加入 10 μL 样本，对照管不加。
- ③ 向测定管和对照管依次加入 200 μL 试剂二工作液、50 μL 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 20 μL 试剂五。
- ⑥ 向对照管加入 10 μL 样本，测定管不加。
- ⑦ 向测定管和对照管加入 20 μL 试剂六。
- ⑧ 充分混匀，室温静置 5 min，取 300 μL 到酶标板中，波长 520 nm，测定各孔 OD 值。

操作表

	测定管	对照管
试剂一(μL)	100	100
样本(μL)	10	--
试剂二工作液(μL)	200	200
试剂三工作液(μL)	50	50
充分混匀，37°C 孵育 30 min		
试剂五(μL)	20	20
样本(μL)	--	10
试剂六(μL)	20	20
充分混匀，室温静置 5 min，取 300 μL 到酶标板中，波长 520 nm，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 BCA 法（货号：GBQ162）。

全血样本

- ① 测定管和对照管：各取 100 μL 试剂一，加入 1.5 mL EP 管中；
- ② 向测定管加入 10 μL 全血样本，对照管不加。
- ③ 向测定管和对照管依次加入 200 μL 试剂二工作液、50 μL 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 20 μL 试剂五。
- ⑥ 向对照管加入 10 μL 全血样本，测定管不加。
- ⑦ 充分混匀，室温静置 5 min，取 300 μL 到酶标板中，波长 520 nm，测定各孔 OD 值。

操作表

	测定管	对照管
试剂一(μL)	100	100
全血样本(μL)	10	--
试剂二工作液(μL)	200	200
试剂三工作液(μL)	50	50
旋涡混匀仪充分混匀，37°C 孵育 30 min		
试剂五(μL)	20	20
全血样本(μL)	--	10
充分混匀，室温静置 5 min，取 300 μL 到酶标板中，波长 520 nm，测定各孔 OD 值。		

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。

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

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。

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

注解：

ΔA ：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	0.62-190.43 U/mL	平均批间差	5.6 %
灵敏度	0.62 U/mL	平均批内差	4.8 %
平均回收率	96 %		

附录2 实例分析

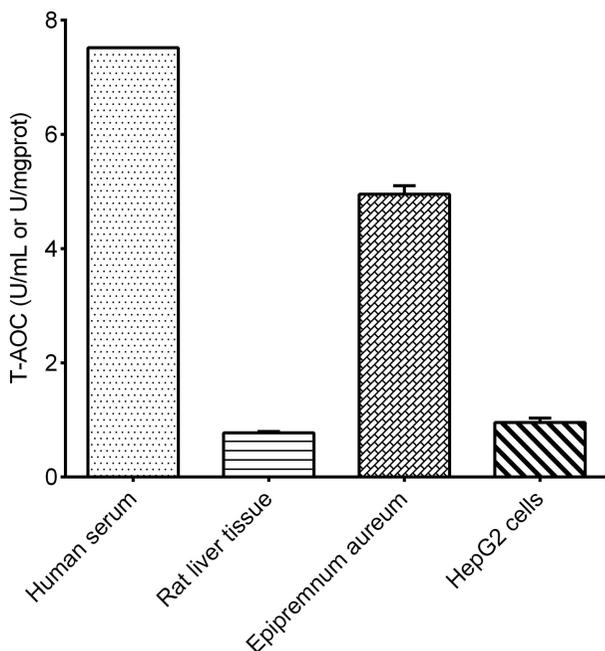
例如检测人血清(数据仅供参考):

取10 μL 人血清样本,按操作表操作,测定孔、对照孔分别测定两次,结果如下:

测定孔平均OD值为0.081,对照孔平均OD值为0.020,计算结果为:

$$\text{总抗氧化能力 (U/mL)} = \frac{0.081-0.020}{0.01} \div 30 \times \frac{0.37}{0.01} = 7.52 \text{ U/mL}$$

按照操作过程,测定人血清(加样量10 μL)、大鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量13.99 mgprot/mL,加样量10 μL)、绿萝组织(10%组织匀浆的蛋白含量1.59 mgprot/mL,加样量10 μL)和HepG2细胞(蛋白含量5.02 mgprot/mL,加样量10 μL)的T-AOC能力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本显色很低	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
样本测量结果>190.43 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