总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒

微板法(FRAP)

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使用说明书

货号：JL-T1389　　**有 效 期：**6 个月

规格：48T(40S)/96T(88S)　　**保存温度：**2-8℃

实验原理：

在酸性环境下，抗氧化物可以还原 Fe^{3+}-三吡啶三吖嗪(Fe^{3+}-TPTZ)产生蓝色的 Fe^{2+}-TPTZ 的能力反映了总抗氧化能力。

检测范围：0.049-2.5mmol/L　　灵敏度：0.049mmol/L

注意事项：

1. 尽量避免使用在中酸性条件下呈蓝色或接近蓝色的试剂，否则对本试剂盒的检测结果产生干扰。

2. 样品中不宜添加 Tween、Triton 和 NP-40 等去垢剂和 DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的还原剂。

3. 不能使用过期产品，不同货号和批号组分不得混用。

4. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。

5. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。

6. 试剂严格按保存条件保存，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。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成：

试剂名称	规格(48T/40S)	规格(96T/88S)	保存条件
提取液	60 mL×1 瓶	120 mL×1 瓶	2-8℃
试剂一	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	2-8℃，避光
试剂二	1 mL×1 瓶	2 mL×1 瓶	2-8℃，避光
试剂三	1 mL×1 瓶	2 mL×1 瓶	2-8℃，避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃，避光

仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水。

样本处理及要求：

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.049-2.5mmol/L 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，样本稀释液为提取液。

2. **血清、血浆、唾液、尿液等液体：**血浆 4℃，5000rpm 离心 10min，取上清待测（血浆制备时建议使用肝素或柠檬酸钠抗凝，不宜使用 EDTA）。血清、唾液、尿液等可直接进行测定。

3. **组织匀浆：**按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例(例如约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）进行冰浴匀浆，充分破碎；离心机 4℃，10000 g，10min，取上清，置冰上待测。

4. **细胞样本：**按照细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为 500 ~ 1000：1 的比例（例如 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎（功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；离心机 4℃，10000 g，10min，取上清，置冰上待测。

检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。

2. **100mmol/L 硫酸亚铁溶液的配制**：用电子天平精确称取标准品 27.8mg，加蒸馏水 1mL 溶解混匀即可。该试剂必须现用现配，硫酸亚铁溶液容易氧化产生三价铁盐，使溶液的颜色从最初的淡绿色逐渐转变为浅黄色。如果发现溶液的颜色已经呈现明显的黄色，弃之，重新配制。

3. **不同浓度标准品的稀释：**先将 100 mmol/L 硫酸亚铁用蒸馏水稀释至 10 mmol/L，按照下表稀释成以下浓度的标准品工作液 0.3mmol/L、0.6mmol/L、0.9mmol/L、1.2mmol/L、1.8mmol/L、2.1mmol/L、2.5mmol/L。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
标准品浓度(mmol/L)	0.3	0.6	0.9	1.2	1.8	2.1	2.5
10mmol/L 标准品(μL)	6	12	18	24	36	42	50
蒸馏水(μL)	194	188	182	176	164	158	150

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

4. **工作液的配置(现配现用)**：将试剂一、试剂二、试剂三按 10:1:1 的比例混合，即 10ml 试剂一加 1ml 试剂二和 1ml 试剂三，配置后使用前 37℃预温 10-15min。配置完成后，避光保存，并在两小时内用完。

操作步骤：

1. **酶标仪预热 30min，调节波长至 593nm。**

2. **样本测定（在 96 孔板中依次加入）**

试剂名称(μL)	空白孔	标准孔	测定孔
提取液	5		
样品			5
标准品		5	
工作液	180	180	180
充分混匀，反应 20min，在 593nm 处测定各孔 OD 值。			

注：空白孔和标准孔只需测定 1-2 次。

实验结果结算：

1. **标准品拟合曲线：** y=ax+b

2. 血清（浆）等液体样本计算公式：

T-AOC（mmol/L）=(△A-b)÷a×N

3. 组织、细胞按样本按蛋白浓度计算公式：

T-AOC（mmol/gprot）= (△A-b)÷a×N÷Cpr

4. 按样本质量计算公式：

T-AOC（mmol/kg wet weight）= (△A-b)÷a×N÷m×V

注：

y：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值

△A：测定孔 OD 值-空白孔 OD 值

x：标准品的浓度

N：样本稀释倍数

a：标曲的斜率

V：样本匀浆液加入量，mL

b：标曲的截距

m：组织湿重质量，g

Cpr：待测样本的蛋白浓，gprot/L

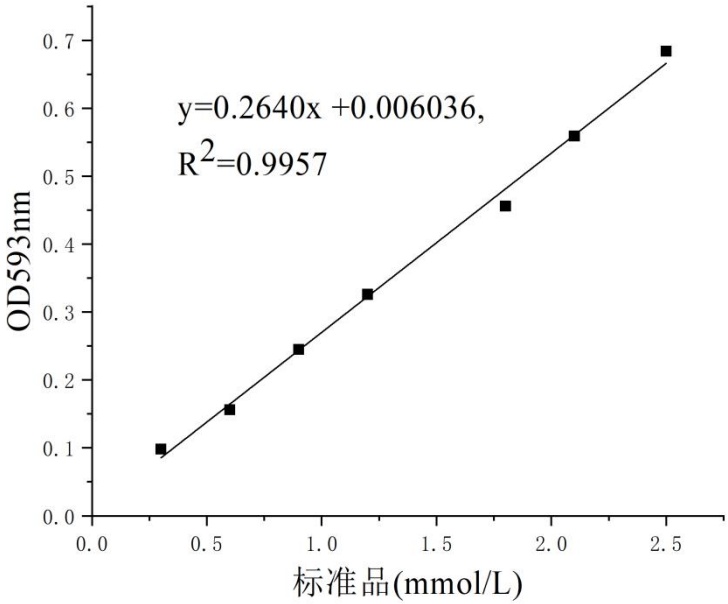
样本数据：

仅供参考，建议各实验室建立自己的范围

样本类型	稀释倍数	数值
人血清	2 倍	0.294mmol/L

参考曲线：

y = 0.2640x +0.006036, R^2=0.9957，x 是标准品硫酸亚铁浓度(mmol/L),y 是△A。



注意：本图仅供参考，应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

Note:

Note:

咨询电话：400-0066-400

传　　真：021-55660885

电子邮箱：shjlsw@163.com

网　　址：www.jonln.com