

过氧化氢(H₂O₂)含量试剂盒

微板法

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-T2228

有效期：6个月

规格：48T(41S)/96T(89S)

保存温度：2-8℃

实验原理：

H_2O_2 与钼酸铵反应生成稳定的黄色络合物且在 405nm 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 BCA 法 (货号: JL-T0336)。

检测范围: 1-150mmol/L **灵敏度:** 1mmol/L

注意事项：

1. 不能使用过期产品, 不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用, 以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 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。
5. 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/41S)	规格 (96T/89S)	保存条件
提取液	55mL×1 瓶	110mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	6mL×1 瓶	12mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	2.83mL×1 瓶	2.83mL×2 瓶	2-8°C保存, 避光

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、可调式移液器、旋涡混匀仪、恒温箱、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: 1-150mmol/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, 样本的稀释液为提取液。

2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。

1. **血清(浆)等液体样本**: 直接测定。若浑浊, 离心后取上清测定。

2. **组织样本**: 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)进行匀浆, 匀浆后, 4°C, 10000 g 离心 10min, 取上清置冰上待测。如需检测蛋白浓度, 可留取部分上清用于蛋白浓度测定。

3. **细菌/细胞样本**: 收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌/

细胞数量 (10^4): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例(建议按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL、提取液), 超声波破碎细菌或细胞 (功率 200w, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 10000 g, 离心 10min, 取上清待测。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒, 平衡至室温。
2. 试剂一: 过饱和试剂, 如有絮状沉淀, 临用前可 37°C 加热搅拌溶解。
3. **标准品溶液的配制:** 临用前使用前取一支加 7.17mL 蒸馏水混匀, 配置成 500mmol/L 标准品母液。配置好后 2-8°C 可保存 3 天。500mmol/L 标准品母液按下表用对应量的蒸馏水稀释成以下浓度的标准品工作液: 0mmol/L、5mmol/L、10mmol/L、25mmol/L、50mmol/L、100mmol/L、125mmol/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	5	10	25	50	100	125
500mmol/L 标准品 (μ L)	0	5	10	25	50	100	125
蒸馏水 (μ L)	500	495	490	475	450	400	375

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准管加样体系操作, 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。

咨询电话: 400-0066-400

网址: www.jonln.com

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 405nm。
2. 样本测定 (在 96 孔板中依次加入) :

成分 (μL)	标准孔	测定孔
不同浓度标准品	30	
样本		30
提取液	50	50
混匀并震板 3s, 25°C准确反应 10 分钟		
试剂一	120	120
混匀并震板 3s, 立即于 405nm 处测定各孔 OD 值。		

实验结果结算：

1. **标准品拟合曲线：** $y=ax+b$ 。

2. **按液体体积计算公式：**

$$\text{过氧化氢 (mmol/L)} = [(\Delta A-b) \div a \times V_{\text{样}}] \div V_{\text{样}} \times N = (\Delta A-b) \div a \times N$$

3. **按样本蛋白浓度计算公式：**

$$\text{过氧化氢 (mmol/g prot)} = [(\Delta A-b) \div a \times V_{\text{样}}] \div V_{\text{样}} \div \text{Cpr} \times N = (\Delta A-b) \div a \div \text{Cpr} \times N$$

4. **按样本质量计算公式：**

$$\text{过氧化氢 (mmol/g)} = [(\Delta A-b) \div a \times V_{\text{样}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \times N = (\Delta A-b) \div a \div W \times N$$

5. **按细菌或细胞数量计算公式：**

$$\text{过氧化氢 (mmol/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A-b) \div a \times V_{\text{样}}] \div (V_{\text{样}} \times 500) \times N = (\Delta A-b) \div a \times N \div 500$$

注：

y: 标准品 OD 值-空白孔 OD 值
(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

ΔA : 测定孔 OD 值-空白孔 OD 值
(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

N: 样本稀释倍数

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.03mL

$V_{\text{提}}$: 加入提取液体积, 1mL

W: 样本鲜重, g

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

500: 细胞或细菌总数, 500 万。

咨询电话: 400-0066-400

网址: www.jonln.com

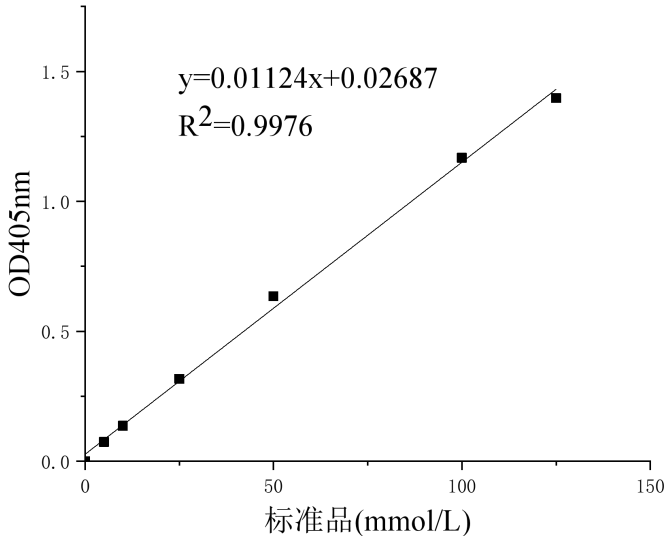
参考样本数据:

以下数据仅供参考:

样本类型	稀释倍数	参考值
绿萝 (10%匀浆)	不稀释	12.452mmol/g prot
大鼠肾脏 (10%匀浆)	不稀释	5.373mmol/g prot
人血清	不稀释	63.448mmol/L

参考曲线:

$y=0.01124x+0.02687$, $R^2=0.9976$, x 是标准品浓度(mmol/L), y 是 ΔA 。



注意: 标准曲线仅供参考, 用户不用制作。

咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjls@163.com

网 址：www.jonln.com