

Hydrogen Peroxide (H₂O₂) Content Assay Kit

过氧化氢(H₂O₂)含量检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL857B	过氧化氢(H ₂ O ₂)含量检测试剂盒 微板法	96T

产品简介:

过氧化氢 (H₂O₂)是生物体内常见的活性氧化代谢产物, 具有损伤生物大分子、产生细胞毒害的能力, 而且还可以作为信号分子。在生物和非生物胁迫应激、细胞程序性死亡以及生长发育调控过程中起重要作用, 是一种关键的调节因子。它可以激活 NF-kappaB 等因子, 哮喘、炎症性关节炎、动脉硬化以及神经退行等许多疾病都与过氧化氢相关的信号途径有关。

过氧化氢在与钛盐反应时, 生成过氧化物—钛复合物黄色沉淀, 可被浓硫酸溶解后, 在波长 415nm 波长下有最大吸收峰。其颜色深浅与 H₂O₂ 浓度成线性关系。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉末 ×1 支	4℃保存	临用前加入 4mL 水, 涡旋振荡充分溶解, 若有沉淀, 可静置 10min (或更长时间) 或转移至 2mL 离心管中 5000g 室温离心 5min, 取上清液用于检测。
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 23mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	液体 ×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1. 组织样本准备:

- 称取约 0.1g 样本组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 1mL 丙酮, 进行冰浴匀浆, 转移至离心管中, 用丙酮定容至 1mL;
- 10000-12000g, 4℃离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可以按照组织质量 (g): 丙酮为 1: 5~10 的比例提取

2. 细菌/细胞样本准备:

- 收集细菌或细胞到离心管内, 离心弃上清;
- 取 5×10⁶ 个细菌或细胞加入 1mL 丙酮, 冰浴超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 强度 20% 或 200W, 超声 3S, 间隔 10S, 重复 30 次);
- 10000-12000g, 4℃离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照每 0.5~1×10⁷ 个细菌/细胞加入 1mL 丙酮进行提取

3. 液体样本准备:

澄清的液体直接检测; 若浑浊则离心后取上清检测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



二、样品测定:

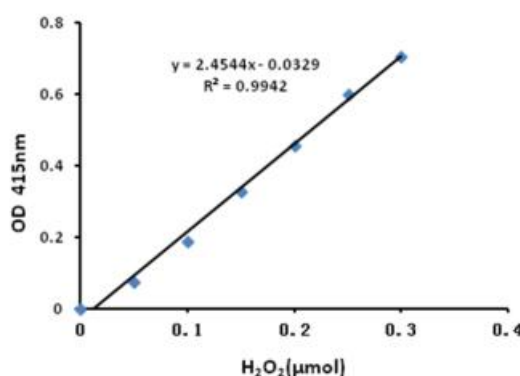
1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 415nm。
2. 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管(做一次)
样本	250	-
丙酮	-	250
试剂一	25	25
试剂二	50	50
充分混匀, 10000-12000g, 25°C离心 10min, 弃上清, 留沉淀		
试剂三	230	230
加入试剂三溶解沉淀后混匀(若有沉淀产生, 10000-12000g 离心 2 分钟即可)。取 200ul 上清液转移至 96 孔板中, 于 415nm 处读取吸光值 A。ΔA=A 测定-A 空白。		

- 【注】: 1. 对于色素含量高的样本可能在加入试剂三后出现悬浮黑色物质, 可减少样本量(如减至 50μL, 则另加 200μL 丙酮, 总共 250μL), 或在加入试剂三前的沉淀中加入 250μL 丙酮混匀离心除去色素(重复 2 次)。
2. ΔA 线性范围为 0.03-1.0, 若 ΔA 超过 1.0 则需用丙酮稀释, 计算公式乘以相应稀释倍数 D。若 ΔA 值较低可增加样本取样质量 W(如增加至 0.2g)或增加样本加样体积 V1(如由 500μL 增至 700μL, 其他试剂不变), 则改变后的 W 和 V1 代入公式重新计算。

三、含量计算

1. 标准曲线方程: $y = 2.4544x - 0.0329$; x 为标准品摩尔质量, μmol; y 为 ΔA。



2. 按样本质量计算:

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0329) \div 2.4544] \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 1.63 \times (\Delta A + 0.0329) \div W \times D$$

3. 按细菌/细胞密度计算:

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0329) \div 2.4544] \div (500 \times V1 \div V) \times 10^3 \times D$$

$$= 3.26 \times (\Delta A + 0.0329) \times D$$

4. 按液体体积计算:

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量}(\mu\text{mol/mL}) = [(\Delta A + 0.0329) \div 2.4544] \div V1 \times D$$

$$= 1.63 \times (\Delta A + 0.0329) \times D$$

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



V---加入丙酮体积，1mL

W---样本质量，g

V1---加入反应体系中样本体积，0.25mL

D---稀释倍数

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（20 $\mu\text{mol/mL}$ ）：临用前取出 10 μL 标准品溶解在 4.99mL 丙酮中，充分混匀。
- 2 把母液用丙酮稀释成以下浓度梯度的标准品：0，0.2，0.4，0.6，0.8，1.0，1.2 $\mu\text{mol/mL}$ 。
也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C保存三个月。

