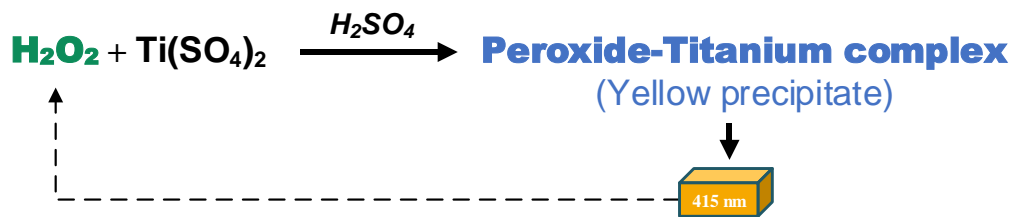




过氧化氢 (H₂O₂) 含量检测试剂盒
Hydrogen Peroxide (H₂O₂) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



过氧化氢 (H₂O₂) 含量检测试剂盒

Hydrogen Peroxide (H₂O₂) Content Assay Kit

一、产品描述

H₂O₂ 是生物体内最常见的活性氧分子，也是活性氧相互转化的枢纽，主要由 SOD 和 XOD 等催化产生，由 CAT 和 POD 等催化降解。H₂O₂ 可以直接或间接氧化细胞内核酸、蛋白质等生物大分子，并使细胞膜遭受损害，从而加速细胞的衰老和解体，也是许多氧化应激反应中的关键调节因子。

H₂O₂ 与硫酸钛反应生成黄色过氧化-钛复合物沉淀，产物在 415 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测 H₂O₂ 的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	丙酮 120 mL×1 瓶 (自备试剂)	4°C避光保存	4°C预冷后使用
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前加入 4 mL 浓盐酸充分溶解 (40-60°C水浴至完全溶解，需提前准备)
试剂三	液体 8 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂四	液体 40 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C避光保存	1 mmol/mL H ₂ O ₂ 标准溶液
标准稀释液的制备：将 1 mmol/mL H ₂ O ₂ 标准液使用丙酮（4°C预冷）稀释至 2.5、2.0、1.5、1.0、0.5、0.25 μmol/mL 即为标准稀释液。			

需自备试剂：丙酮 (CH₃COCH₃, MW=58.08, CAS: 67-64-1); 浓盐酸 (HCl, MW=36.46, CAS: 7647-01-0)

序号	A	B	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μmol/mL)	1000	100	10	10	10	10	10	10
标准液体积 (μL)	100	100	250	200	150	100	50	25
4°C预冷丙酮体积 (μL)	900	900	750	800	850	900	950	975
稀释后浓度 (μmol/mL)	100	10	2.5	2.0	1.5	1.0	0.5	0.25

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、丙酮、浓盐酸和蒸馏水。

1.样品处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：试剂一体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：按照每 100 μ L 液体样本加入 900 μ L 试剂一的比例充分混匀，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 415 nm，蒸馏水调零。

②试验前将**试剂二**、**试剂三**和**试剂四** 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 10 min 以上。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
待测样本	300	-	-
标准稀释液	-	300	-
试剂一	-	-	300
试剂二	30	30	30
试剂三	60	60	60
8000 g 常温离心 10 min，弃上清，留沉淀 (若样本含有色素，应使用丙酮清洗 3-5 次去除色素)			
试剂四	300	300	300
充分振荡混匀，使沉淀完全溶解，室温静置 5 min			

吸光值测定：吸取 200 μ L 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 415 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 2.5、2.0、1.5、1.0、0.5、0.25 μ mol/mL 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x (μ mol/mL)。

3. H₂O₂ 含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{样}} \times V_{\text{提}}}{W \times V_{\text{样}}} = \frac{x}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{样}}}{\text{Cpr} \times V_{\text{样}}} = \frac{x}{\text{Cpr}}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times V_{\text{样}} \times V_{\text{提}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = D \times x$$

注释： V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.3 mL；V 提取：待测样本总体积，1 mL；W：组织样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计；D：液体样本稀释倍数，(100 μL 液体样本+900 μL 试剂一) ÷ 100 μL 液体样本= 10。

四、注意事项

- ①丙酮易挥发，4℃预冷后再使用，研磨时必须在冰上进行；
- ②试剂的挥发性均较高，建议在通风厨中进行操作，并做好防护措施；
- ③若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用丙酮适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- ④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

