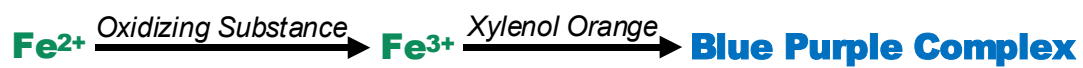




总氧化状态（TOS）检测试剂盒
Total Oxidant Status (TOS) Assay Kit



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



总氧化状态（TOS）检测试剂盒

Total Oxidant Status (TOS) Assay Kit

一、产品描述

总氧化状态（Total Oxidant Status, TOS）是用于评估生物体内氧化应激水平的重要指标，可通过量化生物样本中氧化剂分子的总浓度来反映氧化应激的程度。总氧化状态的评估有助于更好地理解氧化应激在各种疾病中的作用机制，并为相关疾病的预防和治疗提供科学依据。

样本中氧化性物质能够将 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} ， Fe^{3+} 进一步与二甲酚橙反应生成蓝紫色络合物，产物在 560 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征样本的总氧化状态。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂二	液体 4 mL×1 瓶	4°C 避光保存	使用后应注意及时密封保存 (避免试剂长时间在空气中暴露)
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 避光保存	1 mmol/mL H_2O_2 标准液
标准稀释液的制备（现用现配）：使用前将 1 mmol/mL H_2O_2 标准液使用蒸馏水稀释至 0.08、0.06、0.04、0.02、0.01、0.005 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准稀释液。			

序号	A	B	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	1000	50	1.0	1.0	1.0	0.04	0.02	0.01
标准液体积 (μL)	50	20	80	60	40	500	500	500
蒸馏水体积 (μL)	950	980	920	940	960	500	500	500
稀释后浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	50	1.0	0.08	0.06	0.04	0.02	0.01	0.005

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、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、蒸馏水。

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样品量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

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):提取液体积(mL) 为（500-1000）: 1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，总时间 3 min），4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 560 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一置于 25℃ 预热 15 min 以上。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	150	-	-
标准稀释液	-	150	-
蒸馏水	-	-	150
试剂一	800	800	800

①充分混匀，置于玻璃比色皿中测定 560 nm 处吸光值；

②记为 A1 测定、A1 标准和 A1 空白；

③测定完成后将反应液转移至原离心管中；

试剂二	50	50	50
-----	----	----	----

①充分混匀，37℃ 准确反应 5 min；

②立即置于玻璃比色皿中测定 560 nm 处吸光值；

③记为 A2 测定、A2 标准和 A2 空白；

注：①37℃ 准确反应 5 min 结束后应立即测定吸光值，样本较多时建议分批加入试剂二，反应结束后立即测定吸光值；②各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

计算： ΔA 测定 = (A2 测定 - A1 测定) - (A2 空白 - A1 空白)， ΔA 标准 = (A2 标准 - A1 标准) - (A2 空白 - A1 空白)。

标准曲线的建立：以 0.08、0.06、0.04、0.02、0.01、0.005 $\mu\text{mol/mL}$ 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 测定代入公式中得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

3.总氧化状态（TOS）计算

3.1 单位定义

总氧化状态（TOS）单位以过氧化氢当量 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv.表示，即样本总氧化状态达到同样吸光度变化值所需的标准液浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ）。

3.2 总氧化状态（TOS）计算公式

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./mg prot}) = \frac{x \times D}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./g}) = \frac{x \times V_{\text{提}} \times D}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

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

④按液体样本体积计算

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

注释： V 提：加入提取液的体积，1 mL；Cpr：待测样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

- ①待测样本制备后应当天完成测定，切勿长时间低温保存；
- ②若 ΔA 测定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蒸馏水适当稀释后再进行测定；低于最低值建议制备更高浓度的样本后再进行测定，计算时相应修改；
- ③37°C准确反应 5 min 结束后应立即测定吸光值，以确保检测结果的准确性和重复性；若样本较多可分批进行检测；
- 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.

