

## 荧光/光吸收法过氧化氢定量试剂盒

产品货号：26310

产品规格：100次/500次

### 产品简介：

本试剂盒用于定量分析细胞及酶水平的过氧化氢含量。

在过氧化物酶的存在下，Reagent A 能够与过氧化氢以 1:1 的比例反应，生成物有红色荧光，该荧光可在激发光 571nm，发射光 585nm 处被监测（激发光亦可用 530-571nm 波长激发，发射光可用 580-590nm 监测）。本试剂盒最低检测限为 50nM 过氧化氢。

### 包装清单：

产品信息	100次包装	500次包装	储存条件
Reagent A	0.05ml	0.25ml	-20℃
Reagent B	0.05ml	0.25ml	-20℃
10×Reaction Buffer	1.2ml	6ml	室温
10×KRPB Buffer	3.5ml	7ml	室温

### 操作步骤：

普通样品过氧化氢含量测定：

1. 用超纯水将 10×Reaction Buffer 稀释为 1×Reaction Buffer。
2. 于 96 孔板中每孔加入 94  $\mu$ l 1×Reaction Buffer。
3. 于 96 孔板中加入 5  $\mu$ l 样品，不足 5  $\mu$ l 的用 1×Reaction Buffer 补足 5  $\mu$ l。
4. 于 96 孔板中加入 0.5  $\mu$ l Reagent A, 0.5  $\mu$ l Reagent B。
5. 37℃避光孵育 5min。
6. 用酶标仪激发光 571nm, 发射光 585nm 检测(激发光亦可用 530-571nm 波长激发, 发射光可用 580-590nm 监测), 分析数据。
7. 可选：除步骤 6 所示荧光检测，亦可在 560nm 处检测吸光度以用于数据分析。
8. 背景扣除：除待测样品孔，需做空白孔（用 5  $\mu$ l 1×Reaction Buffer 代替样品）检测背景值。

### 细胞内过氧化氢含量测定：

1. Reaction mixture 制备：每个样品准备 100  $\mu$ l Reaction mixture。包含：0.5  $\mu$ l Reagent A, 0.5  $\mu$ l Reagent B, 10  $\mu$ l 10×KRPB Buffer, 89  $\mu$ l 超纯水。根据实验样品数，准备适量 Reaction mixture。
2. 将 100  $\mu$ l Reaction mixture 加入 96 孔板中，37℃避光孵育 5min 备用。
3. 细胞样品制备：准备收集约  $1.5 \times 10^4$  个细胞于 1.5ml 离心管中，PBS 清洗后 3000rpm 离心 5min，弃上清。
4. 加入 20  $\mu$ l KRPB buffer 悬浮的细胞（约  $1.5 \times 10^4$  个细胞）于步骤 2 的 96 孔板中，37℃避光孵育 10min。如需空白对照，以 20  $\mu$ l KRPB buffer 代替细胞，作为空白对照孔。
6. 用酶标仪激发光 571nm, 发射光 585nm 检测(激发光亦可用 530-571nm 波长激发, 发射光可用 580-590nm 监测), 分析数据。
7. 可选：除步骤 5 所示荧光检测，亦可在 560nm 处检测吸光度以用于数据分析。

### 注意事项：

1. Reagent A 和 Reagent B 为光敏试剂，请避光保存。
2. 待测样品中，DTT 或  $\beta$  巯基乙醇浓度不得高于 10  $\mu$ M。
3. 待测样品 pH 值需小于 8.5。
4. 建议每次使用前用过氧化氢做标准曲线。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号  
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779  
Q Q: 807961520 731791866  
邮箱：shsunbao@126.com  
http://www.saint-bio.com