

EZ-Total Antioxidant Capacity (TAC) Assay Kit

Oxidative Stress Assay Kit

Cat. No. DG-TAC200

FOR RESEARCH USE ONLY.

NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES.

▪ Product Description

항산화 물질은 자유라디칼 및 다른 잠재적 독성 산화 물질을 소거하거나 그 형성을 방지하는 중요한 역할을 합니다. 항산화 물질은 크게 효소계 (GSH reductase, catalase, peroxidase 등), 작은 분자 (ascorbate, uric acid, GSH, vitamin E 등) 그리고 단백질 (albumin, transferrin 등) 의 3 가지 종류로 분류할 수 있습니다.

항산화 물질들은 그 특성에 따라 환원력이 다르기 때문에 비교측정이 쉽지 않아 표 준물질을 사용합니다. 그 중에서 Trolox 는 표준 항산화 물질로써 많이 사용되며 다른 모든 항산화 물질들은 Trolox 당량에 대하여 비교 측정될 수 있습니다.

EZ-Total Antioxidant Capacity (TAC) Assay kit 는 항산화 물질이 대부분 환원형 물질이 라는 것에 착안하여 항산화 물질이 Cu^{2+} 를 Cu^{+} 로 산화시키는 원리를 이용하여 colorimetric 방법으로 흡광도 450 nm 에서 측정합니다.

▪ Kit Contents and Storage Conditions

Component	200 assay	Storage
Trolox Standard (10 mM)	2 vial	4 °C
Copper Reagent	20 mL	4 °C
Reaction buffer	20 mL	4 °C

* 본 제품은 연구 목적으로만 사용되어야 하며, 인체용 또는 진단을 목적으로 사용되어서는 안됩니다.

* 본 제품으로 수행할 수 있는 test 수에 있어서 200 assays 라 함은 96 well plate 1 well 을 기준으로 약 200 개의 well 을 처리할 수 있는 시약을 제공한다는 의미입니다. 이중 Standard, Blank, 샘플당 duplication 처리 등을 고려 하면 실제 테스트 가능한 시료의 숫자는 약 50 samples 보다 적을 수 있습니다. 제품설명서를 자세히 검토하고, 테스트하고자 하는 샘플의 특성을 고려하여 소요되는 키트의 수를 결정하십시오.

▪ Preparation of Reagent

Solution	Preparation	Storage and Stability
Trolox Standard	Ethanol 1 mL 을 넣고 부드럽게 inverting 하며 잘 섞어줍니다. 사용하기 직전에 준비하고 vortexing 하지 않습니다.	Trolox Standard Solution 은 24 시간 안에 사용하세요.

* Copper Reagent 와 Reaction Buffer 는 상온에 1 시간이상 두지 마십시오.

* Sample 에 EDTA 성분이 들어있으면 측정이 되지 않을 수 있습니다.

* Trolox standard 는 정확한 표준곡선을 위해 95% 이상의 ethanol 사용을 권장드립니다.

▪ General Protocol

1. Standard preparation

10 mM Trolox Standard Solution 2, 4, 6, 8, 10 μl 를 1.5ml micro tube 에 분주 후 dH₂O 를 첨가하여 Final volume 을 100 μl 로 맞춰줍니다.

Standard No.	Volume of 10 mM Trolox Standard Solution	Volume of dH ₂ O	Final standard volume in tube	Final standard Trolox Conc. (mM)
1	0 μl	100 μl	100 μl	0
2	2 μl	98 μl	100 μl	0.2
3	4 μl	96 μl	100 μl	0.4
4	6 μl	94 μl	100 μl	0.6
5	8 μl	92 μl	100 μl	0.8
6	10 μl	90 μl	100 μl	1.0

* Standard 는 실험 시 마다 측정하는 것을 권장합니다.

2. Standard preparation

- 모든 sample 은 ice 위에서 진행합니다.
산소, 빛, 열 등에 의해 sample 이 영향을 받을수 있으므로 30 분 안에 준비합니다.
- **Urine** : PBS (pH 7.0)로 희석하여 분석을 진행합니다.
- **Plasma** : 전처리 없이 바로 분석을 진행합니다.
- **Tissue**
 - ① 차가운 PBS (pH 7.0)을 넣고 얼음 위에서 homogenization 합니다.
 - ② Centrifuge(4 °C, 10,000 g, 10 min)를 하고 상층액만 사용 합니다.
- **Cell**
 - ① 차가운 PBS (pH 7.0)로 2-3 차례 perfusion 합니다.
 - ② 차가운 PBS (pH 7.0)를 넣고 얼음 위에서 homogenization 또는 sonication 합니다.
 - ③ Centrifuge(4 °C, 10,000 g, 5 min)를 하고 상층액만 사용 합니다.

3. Reaction mixture preparation

1. 1.5 ml Micro tubes 에 다음과 같이 혼합하여 300 μl /tube 를 준비합니다.

Tube	Standard	Sample	Blank
Standard/Sample	standard 100 μl	sample 100 μl	sample 100 μl
Copper Reagent	100 μl	100 μl	100 μl
Reaction buffer	100 μl	100 μl	-
Ethanol	-	-	100 μl
Total volume	300 μl	300 μl	300 μl

2. 상온에서 30 분 동안 반응시킵니다.
3. 96 well plate 에 120 μl 씩 넣고, Plate reader 를 이용하여 450nm 에서 흡광도를 측정합니다.

■ Calculation

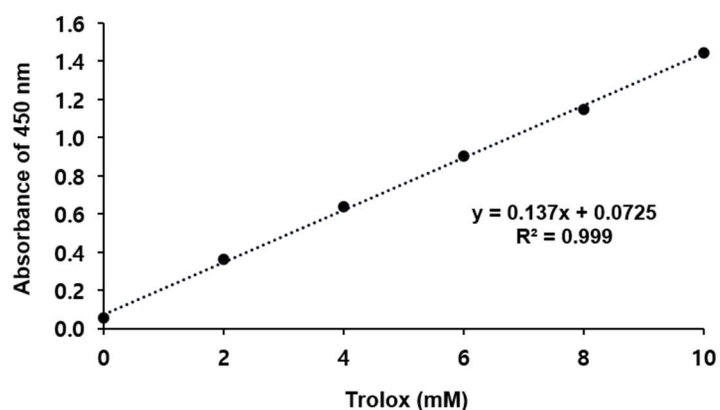
1. 모든 측정 값에서 blank 의 O.D. 값을 빼줍니다.
2. Trolox 의 농도(X 축)에 대한 O.D.값(Y 축)을 이용하여 표준곡선을 그려 선형 방정식을 구합니다.
3. 표준곡선에 의해 나타난 선형 방정식을 이용하여 각 시료에 대한 농도를 계산합니다.

샘플 내 Total antioxidant capacity 농도 (C) = B/V x D (mM)

B : Standard curve로부터 구한 측정 well 의 Trolox 의 양(mM)

V : well 에 분주한 시료의 양 (μl)

D : 샘플 희석배율 (ex. 2 배 희석한 경우 : x1/2 이 아닌 x2 로 계산합니다.)



Trolox standard curve. Assay was performed following the kit protocol.

▪ Related Product

	Products	Catalog No.	Assay
Oxidative Stress Assay Kit	EZ-Superoxide Dismutase (SOD) Assay Kit (Colorimetric)	DG-SOD400	400 Assay
	EZ-Glutathione Assay Kit (Colorimetric)	DG-GLU200	200 Assay
	EZ-Catalase Assay Kit (Fluorometric/Colorimetric)	DG-CAT400	400 Assay
	EZ-Hydrogen peroxide/Peroxidase Assay Kit (Fluorometric/Colorimetric)	DG-PER500	500 Assay
	EZ-Lipid Peroxidation (TBARS) Assay Kit (Colorimetric)	DG-TBA200	200 Assay
	EZ-Total Antioxidant Capacity (TAC) Assay Kit (Colorimetric)	DG-TAC200	200 Assay
	EZ-DPPH Antioxidant Assay Kit (Colorimetric)	DG-DPH400	400 Assay
	EZ-ABTS Antioxidant Assay Kit (Colorimetric)	DG-ABT400	400 Assay
	EZ-Glutathione Peroxidase Assay Kit (Colorimetric)	DG-GPX100	100 Assay
Metabolism Assay Kit	EZ-Lactate Assay Kit (Colorimetric)	DG-LAC100	100 Assay
	EZ-Acetylcholinesterase Assay Kit (Colorimetric)	DG-ACE100	100 Assay
	EZ-Ascorbic Acid Assay Kit (Colorimetric)	DG-ASC100	100 Assay
	EZ-ATP Assay Kit (Fluorometric/Colorimetric)	DG-ATP100	100 Assay
	EZ-Free Fatty Acid Assay Kit (Fluorometric/Colorimetric)	DG-FFA100	100 Assay
	EZ-Free Glycerol Assay Kit (Fluorometric/Colorimetric)	DG-FGC100	100 Assay
	EZ-Glucose Assay Kit (Fluorometric/Colorimetric)	DG-GCS100	100 Assay
	EZ-HDL, LDL/VDL Assay Kit (Fluorometric/Colorimetric)	DG-CHO100	100 Assay
	EZ-Total Cholesterol Assay Kit (Fluorometric/Colorimetric)	DG-TSC100	100 Assay
	EZ-Triglyceride Quantification Assay Kit (Fluorometric/Colorimetric)	DG-TGC100	100 Assay
	EZ-Nitric Oxide Assay kit (Colorimetric)	DG-NO500	500 Assay
	EZ-Total Collagen Assay Kit (Colorimetric)	DG-COL100	100 Assay
	EZ-Ethanol Assay Kit (Colorimetric)	DG-ETH100	100 Assay