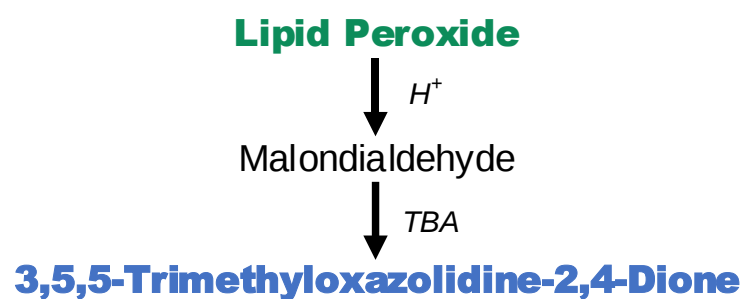




脂质过氧化物 (LPO) 含量检测试剂盒
Lipid Peroxide (LPO) Content Assay Kit



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



脂质过氧化物 (LPO) 含量检测试剂盒

Lipid Peroxide (LPO) Content Assay Kit

一、产品描述

脂质过氧化物是指脂质分子在氧化应激条件下形成的一类具有高度反应性的化合物，其种类主要包括过氧化脂质、脂质过氧化产物和脂质过氧化酸等，自由基、氧化酶、金属离子和外源氧化剂等氧化应激条件，能够促进脂质过氧化反应的发生。脂质过氧化物作为机体氧化应激的关键指标之一，在细胞和组织中发挥着重要的生理作用，但过度产生会导致细胞膜的流动性和通透性发生改变，最终导致细胞结构和功能损伤，其含量变化分析有助于理解氧化应激机制以及开发相应的调整策略。

脂质过氧化物在酸性条件下加热能够产生丙二醛，进一步与硫代巴比妥酸 (Thiobarbituric Acid, TBA) 反应生成棕红色三甲川 (3,5,5-三甲基恶唑-2,4-二酮)，产物在 532 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测脂质过氧化物的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 12 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C避光保存	使用前每瓶加入 8 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C可保存一个月)
试剂三	液体 4 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C避光保存	1000 nmol/mL MDA 标准液
标准稀释液的制备 (现用现配): 将 1000 nmol/mL MDA 标准液使用试剂四稀释至 30、20、10、5、2.5、1.25 nmol/mL 即为标准稀释液。			

注：试剂二较难溶解，建议 70°C加热并剧烈振荡或超声以促进溶解，使用前需检查是否有固体析出。

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (nmol/mL)	1000	100	100	20	10	5	2.5
标准液体积 (μL)	100	300	200	500	500	500	500
试剂四体积 (μL)	900	700	800	500	500	500	500
稀释后浓度 (nmol/mL)	100	30	20	10	5	2.5	1.25

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计或酶标仪、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/培养箱和蒸馏水。

1. 样本处理（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）：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℃ 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）：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，冰浴超声破碎细菌或细胞（200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测，若液体浑浊应离心后取上清测定。

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 532 nm 和 600 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	120	-	-	-
蒸馏水	-	120	-	-
标准稀释液	-	-	120	-
试剂四	-	-	-	120
试剂一	90	90	90	90
试剂二	60	60	60	60
试剂三	30	30	30	30

45℃（植物样本）或 100℃（其他样本）处理 60 min，
冷却至室温，8000 g 常温离心 10 min，取上清液

注：45℃或 100℃处理过程中注意密封以防止水分散失，建议使用螺纹盖离心管。

吸光值测定：吸取 200 μL 上清液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 532 nm 和 600 nm 处吸光值，分别记为 A532 测定、A532 对照、A532 标准、A532 空白和 A600 测定、A600 对照、A600 标准、A600 空白；计算 ΔA 测定 = (A532 测定 - A532 对照) - (A600 测定 - A600 对照)， ΔA 标准 = (A532 标准 - A532 空白) - (A600 标准 - A600 空白)。注：空白管和对照管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 30、20、10、5、2.5、1.25 nmol/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 (nmol/mL)。

3.脂质过氧化物（LPO）含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{脂质过氧化物含量 (nmol/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}} = \frac{x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{脂质过氧化物含量 (nmol/g)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W} = \frac{x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{脂质过氧化物含量 (nmol/10}^4\text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{脂质过氧化物含量 (nmol/mL)} = x$$

注释： V 样总：待测样本总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

- ①试剂二配制后有效期较短，附赠一瓶作为备用，每瓶均可满足至少 100 个样本的检测用量；
- ②标准品处理温度应与样品处理温度保持一致，45℃（植物样本）或 100℃（其他样本）；若同时测定多种类型的样本，应分别制备两种温度处理的标准曲线，不同类型样本带入对应标曲计算结果；
- ③若 A532 测定吸光值超出标曲吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当延长加热反应时间（可延长至 90 min）或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.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

