

脂质过氧化物（LPO）含量检测试剂盒（微量法）

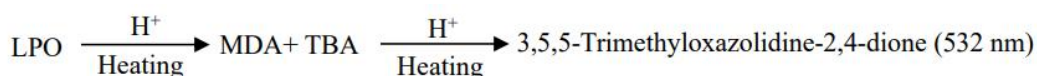
产品货号：BA2016

产品规格：100管/96样

产品说明：

脂质过氧化物（lipid hydroperoxide LPO）是不饱和脂肪酸链经自由基或活性氧作用后产生的过氧化物。病理情况下，脂质过氧化反应增强可导致原本低含量的LPO升高。LPO含量升高会对细胞的结构和功能造成损伤，LPO含量与机体免疫系统和衰老密切相关。

LPO在酸性条件下加热产生丙二醛（MDA），MDA与硫代巴比妥酸(Thiobarbituric acid, TBA)缩合，生成棕红色物质三甲川（3,5,5-三甲基恶唑-2,4-二酮），其最大吸收波长在532nm，进行比色后可估测样本中LPO的含量。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体110mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体11mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂三	液体4mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1瓶	2-8℃
稀释液	液体20mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前取1瓶试剂二加入7mL蒸馏水，此试剂较难溶，可以70℃加热并剧烈振荡以促进溶解，或者通过超声处理以促进溶解。每次用前需检查是否有粉剂析出。用不完的试剂可在2-8℃中保存一个月。
2. 标准品：为1000nmol/mL的标准溶液。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、微量玻璃比色皿/96孔板、冰和蒸馏水。

测定步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照样本质量（g）：提取液体积（mL）为1:5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）加入提取液，冰浴匀浆；8000g 4℃离心10min，取上清置冰上待测。
2. 细菌或细胞样本：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清，按照细菌或细胞数量（10⁴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1mL提取液）加入提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率200W，超声3s，间隔7s，总时间3min），8000g 4℃离心10min，取上清置冰上待测。



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

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

3. 培养液或其他液体：直接检测。若溶液浑浊则离心后取上清进行测定。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至532和600nm，可见分光光度计用蒸馏水调零。
2. 标准溶液的制备：现标准液为1000nmol/mL的MDA标准溶液，将标准液用稀释液稀释至20、10、5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625nmol/mL备用，具体稀释可参考下表。

序号	稀释前浓度(nmol/mL)	标准液体积 (μL)	稀释液体积 (μL)	稀释后浓度 (nmol/mL)
1	1000	40	960	40
2	40	500	500	20
3	20	500	500	10
4	10	500	500	5
5	5	500	500	2.5
6	2.5	500	500	1.25
7	1.25	500	500	0.625
8	0.625	500	500	0.3125
9	0.3125	500	500	0.15625

备注：实验中每个标准管需120μL标准溶液。

3. 在EP管中按下表步骤加样：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	120	-	-	-
蒸馏水	-	120	-	-
标准液	-	-	120	-
稀释液	-	-	-	120
试剂一	90	90	90	90
试剂二	60	60	60	60
试剂三	30	30	30	30

将混合液在45°C（植物样本）或100°C（其他样本）水浴60min后（标准管在两个温度水浴均可），置于冰浴中冷却，8000g，常温，离心10min。吸取900μL上清液于微量玻璃比色皿或96孔板中，测定各样本在532nm和600nm处的吸光度。分别计算 $\Delta A = (A_{532\text{测定}} - A_{532\text{对照}}) - (A_{600\text{测定}} - A_{600\text{对照}})$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = (A_{532\text{标准}} - A_{532\text{空白}}) - (A_{600\text{标准}} - A_{600\text{空白}})$ （标准曲线，空白管和对照管只需做1-2次）。

三、LPO含量的计算

1. 根据标准管的浓度（x，nmol/mL）和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ （y， $\Delta A_{\text{标准}}$ ），建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA （y， ΔA ）代入公式计算样本浓度（x，nmol/mL）
2. 按样本蛋白质浓度计算

$$\text{LPO含量 (nmol/mg prot)} = x \times V_{\text{样}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) = x \div \text{Cpr}$$
3. 按样本质量计算

$$\text{LPO含量 (nmol/g 质量)} = x \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = x \div W$$
4. 按细菌/细胞数量计算

$$\text{LPO含量 (nmol/10}^4\text{cell)} = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) = x \div \text{细胞数量 (万个)}$$
5. 按照液体样本体积计算

$$\text{LPO含量 (nmol/mL)} = x$$

V样：加入样本体积，0.12mL，V样总：提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。



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

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

注意事项:

1. 待测液如果有密集小气泡, 建议静置20min左右等待气泡消失再测, 以免影响测定结果, 如果有少量气泡可以通过低速离心或轻磕等方式来消除。
2. 待测液如果尚未澄清, 可吸取上清液后再次离心。
3. 为防止水浴60min过程中水分散失, 建议使用螺旋管或用封口膜给EP管缠口。
4. 如果用高温助溶试剂二, 需要待其冷却至室温后再使用。
5. 如果测定吸光值过低或接近空白, 适当延长反应时间或加大样本量后, 重新测定。如果吸光值过大或超过检测范围 ($A_{532} > 1.5$ 或者 $\Delta A > 1.5$ 时), 建议将样本适当稀释后进行测定。注意同步修改计算公式。

实验实例:

1. 称取0.1192g绿萝, 加入1mL提取液, 冰浴匀浆, 8000g 4°C离心10min, 取上清置冰上待测, 之后按照测定步骤操作, 使用96孔板测定并进行计算 $A_{532}_{测定} = 0.139$, $A_{532}_{对照} = 0.042$, $A_{600}_{测定} = 0.054$, $A_{600}_{对照} = 0.039$, $\Delta A = 0.082$, 将 ΔA 代入标曲公式 $y = 0.0218x - 0.0054$, $R^2 = 0.9997$, 得出 $x = 4.009$, 按样本质量计算得:
LPO含量 (nmol/g 质量) = $x \div W = 33.63 \text{ nmol/g 质量}$ 。
2. 称取0.1209g大鼠心脏, 加入1mL提取液, 冰浴匀浆, 8000g 4°C离心10min, 取上清置冰上待测, 之后按照测定步骤操作, 使用96孔板测定并进行计算 $A_{532}_{测定} = 0.097$, $A_{532}_{对照} = 0.047$, $A_{600}_{测定} = 0.065$, $A_{600}_{对照} = 0.042$, $\Delta A = 0.027$, 将 ΔA 代入标曲公式 $y = 0.0525x - 0.0007$, $R^2 = 0.9993$, 得出 $x = 0.528$, 按样本质量计算得:
LPO含量 (nmol/g 质量) = $x \div W = 4.367 \text{ nmol/g 质量}$ 。



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

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com