

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

脂质过氧化物测定试剂盒

Lipid Peroxide (LPO) Assay Kit

产品货号: BC00021

产品规格: 100T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

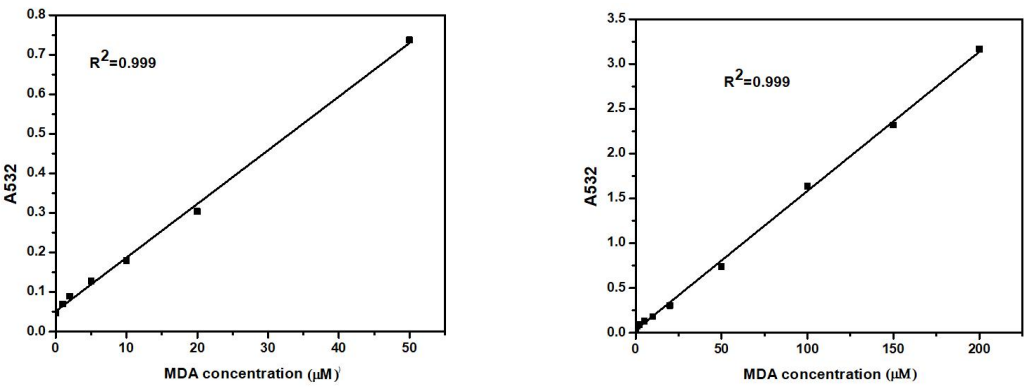
产品中文名称	脂质过氧化物测定试剂盒
产品英文名称	Lipid Peroxide (LPO) Assay Kit
检测方法	Colorimetric
样品类型	组织、细胞、血清、血浆、尿液
检测类型	Quantitative
检测仪器及波长	酶标仪（530-540 nm，最佳检测波长 532nm。双波长测定参考波长 450nm）
检测范围	1-200μM
灵敏度	0.5342μM

产品简介

脂过氧化物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。

产品特点

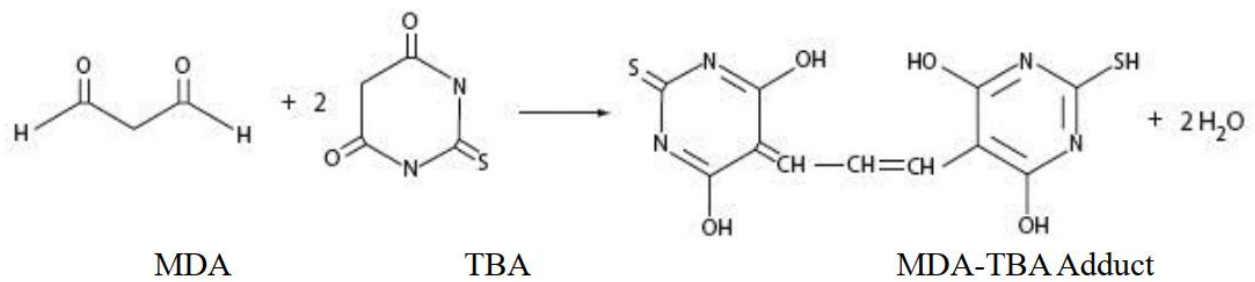
★本试剂盒可以测定 1-200μM 范围内的 LPO，下图展示了标准品不同浓度检测的 A532 读数。



检测原理

LPO 在酸性条件下加热产生丙二醛，丙二醛与硫代巴比妥酸(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。



产品组分

编号	产品名称	包装规格 (100T)	保存方式
试剂一	TBA	25mg	-20℃，需避光保存，开瓶后可室温或 2-8 度存放三个月。
试剂二	TBA 配置液	6.76ml	-20℃，开瓶后可室温或 2-8 度存放三个月。
试剂三	TBA 稀释液	15ml	-20℃，开瓶后可室温或 2-8 度存放三个月。
试剂四	抗氧化剂	0.3ml	-20℃，需避光保存。
试剂五	标准品 (1mM)	0.2ml	-20℃
耗材一	96 孔酶标板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 12 个月。

实验前准备

• 样品处理

1. 血浆、血清或尿液样品制备后可以直接用于 LPO 测定。
2. 组织或细胞可以使用 PBS 或裂解液进行匀浆或裂解。对于组织，组织重量占匀浆液或裂

解液的比例为 10%；对于细胞，每 100 万细胞使用 0.1ml 裂解液或匀浆液。匀浆或裂解后，10000g-12000g 离心 10 分钟取上清用于后续测定。若离心不能获得澄清的上清溶液，或加入 LPO 检测工作液出现浑浊的，需使用 0.2 微米孔径的过滤器过滤以获得澄清的样品溶液。匀浆或裂解等样品制备步骤宜在冰浴或 4°C 进行操作。

3. 对于组织或细胞样品，样品准备完毕后可以用 EnkiLife 生产的蛋白浓度测定试剂盒(BCA 法)(BC00006)测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的 LPO 含量。

• 试剂盒的准备工作

1. TBA 储存液的配制：称取适量 TBA，用 TBA 配制液配制成浓度为 0.37%的 TBA 储存液。例如 25mg TBA 用 6.76ml TBA 配制液配制，最终浓度即为 0.37%。TBA 配制液需完全溶解后再使用，可以加热到 70°C 以促进溶解。TBA 储存液较难溶解，需加热到 70 °C，并通过剧烈振荡以促进溶解。配制好的 TBA 储存液室温避光保存，至少 3 个月内有效。
2. LPO 检测工作液的配制：根据待测定的样品数(含对照)，参考下表在临检测前新鲜配制适量的 LPO 检测工作液。

检测次数	1 次	10 次	20 次	50 次
TBA 稀释液	150μl	1500μl	3000μl	7500μl
TBA 储存液	50μl	500μl	1000μl	2500μl
抗氧化剂	3μl	30μl	60μl	150μl

注意: LPO 检测工作液较难溶解，可以 70°C 加热，并剧烈振荡以促进溶解。也可以通过超声处理以促进溶解。用于检测标准品和检测样品的 LPO 检测工作液需要同一批制备或使用同样的制备方法。配制好的 LPO 检测工作液必须当天使用。

3. 标准品的稀释：取适量标准品用蒸馏水稀释至 1、2、5、10、20、50μM，用于后续制作标准曲线。如果样品中 LPO 的浓度很高，可以增加 100、150 和 200μM 的标准品浓度。

操作流程

1. 在离心管或其它适当容器内加入 0.1ml 匀浆液、裂解液或 PBS 等适当溶液作为空白对照，加入 0.1ml 上述不同浓度标准品用于制作标准曲线，加入 0.1ml 样品用于测定；随后加入 0.2ml LPO 检测工作液。可参考下表设置检测反应体系。
2. 混匀后，100°C 或沸水浴加热 15 分钟。加热时务必注意避免液体暴沸溅出。如果使用加热块(Heat block)进行加热注意用重物压紧离心管盖；如果使用沸水浴，则需使用可把盖子锁死的离心管或螺旋盖离心管，或用 Parafilm 封住离心管口，用针头刺一小孔。最方便和准确的加热方法是使用带有热盖并可以加热 0.5ml PCR 管的 PCR 仪。
3. 水浴冷却至室温，1000g 室温离心 10 分钟。取 200 微升上清加入到 96 孔板中，随后用酶标仪在 532nm 测定吸光度，也可以测定 530-540nm 之间的吸光度。可以设定 450nm 为参考波长进行双波长测定。

操作表如下：

	空白对照	标准品	样品
匀浆液、裂解液或 PBS	0.1ml	—	—
不同浓度的标准品	—	0.1ml	—
待测样品	—	—	0.1ml
LPO 检测工作液	0.2ml	0.2ml	0.2ml
混匀后，100°C 或沸水浴加热 15 分钟。水浴冷却至室温，1000g 室温离心 10 分钟。取 200 微升上清加入到 96 孔板中，酶标仪在 532nm 测定各孔吸光度。			

结果计算

对于血浆、血清或尿液等样品可以直接根据标准曲线计算获得 LPO 的摩尔浓度，对于细胞、或组织样品，计算出样品溶液中的 LPO 含量后，可以通过单位重量的蛋白含量或组织重量等来表示最初样品中的 LPO 含量，例如 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 蛋白或 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 组织。

注意事项

1. 没有检测到 LPO。可能样品中 LPO 浓度过低，在检测限之下。在检测组织或细胞的 LPO 时，请注意使用更多的组织或细胞。并注意尽量不要稀释样品。

2. 因 LPO 检测工作液不稳定, 建议每次做标准曲线, 或处理标准品时和处理样品时所用的条件一致。
3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。