

脂质过氧化物（LPO）含量检测试剂盒（可见分光光度法）

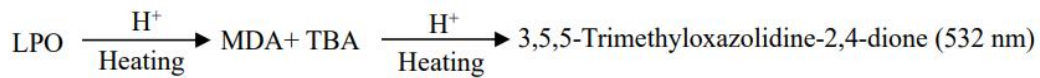
产品货号：BA2017

产品规格：50管/48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60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂三	液体7mL×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14mL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、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、1mL玻璃比色皿、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。
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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至532和600nm，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400μL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	400	-	-	-
蒸馏水	-	400	-	-
标准液	-	-	400	-
稀释液	-	-	-	400
试剂一	300	300	300	300
试剂二	200	200	200	200
试剂三	100	100	100	100

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1mL玻璃比色皿中，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
LPO含量(nmol/mg prot) = $x \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) = x \div C_{\text{pr}}$
3. 按样本质量计算
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
LPO含量(nmol/10⁴cell) = $x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量(万个)}) = x \div \text{细胞数量(万个)}$
5. 按照液体样本体积计算
LPO含量(nmol/mL) = x

V样：加入样本体积，0.4mL，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。

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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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绿萝叶片，按照测定步骤操作，测得计算 $A_{532}_{测定} = 0.143$ ， $A_{532}_{对照} = 0.005$ ， $A_{600}_{测定} = 0.023$ ， $A_{600}_{对照} = 0.004$ ， $\Delta A = 0.119$ ，将 ΔA 代入标曲公式 $y = 0.0289x + 0.0032$ ， $R^2 = 0.9993$ ，计算得 $x = 4.007$ ，按样本质量计算得：

LPO含量（nmol/g 质量）= $x \div W = 33.616$ nmol/g 质量。

2. 称取0.1209g大鼠心脏，按照测定步骤操作，测得计算 $A_{532}_{测定} = 0.122$ ， $A_{532}_{对照} = 0.008$ ， $A_{600}_{测定} = 0.051$ ， $A_{600}_{对照} = 0.003$ ， $\Delta A = 0.066$ ，将 ΔA 代入标曲公式 $y = 0.0838x + 0.0045$ ， $R^2 = 0.9989$ ，得出 $x = 0.734$ ，按样本质量计算得：LPO含量（nmol/g 质量）= $x \div W = 6.071$ nmol/g 质量。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com