

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ132

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(580-590 nm)

Elabscience®脂质过氧化物(LPO)比色法测试盒

Lipid Peroxide (LPO) Colorimetric Assay Kit

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：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、尿液、组织样本中脂质过氧化物的含量。

检测原理

在酸性且 45℃条件下，脂质过氧化物与显色剂结合，产生稳定的显色基团，在 586 nm 处有最大吸收峰，在一定范围内吸光度值与浓度成正比。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：GBQ162）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	储备液 (Substrate Stock Solution)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	稀释液 (Diluent)	20 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酸溶液 (Acid Reagent)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	100 μmol/L 标准品 (100 μmol/L Standard)	6 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。
对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪（580-590 nm）

试剂：无水乙醇、PBS（0.01 M，pH 7.4）

试剂准备

- ① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。
- ② 显色剂工作液：
将试剂一：试剂二按3：1的体积比混匀，现用现配。
- ③ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μmol/L)	0	5	10	20	30	40	50	80
100 μmol/L 标准品(μL)	0	50	100	200	300	400	500	800
无水乙醇(μL)	1000	950	900	800	700	600	500	200

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本：可直接测定。

组织样本：匀浆介质是 PBS (0.01 M, pH 7.4)，匀浆离心后取上清进行测定，留取部分上清测蛋白。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.70-80 $\mu\text{mol/L}$ ，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%大鼠肝匀浆	不稀释
人血浆	不稀释	10%大鼠肾	不稀释
尿液	不稀释		

注：稀释液为 PBS (0.01 M, pH 7.4)。

实验关键点

- ① EP 管的密封性要好，避免泄露。
- ② 加入到孔板中的上清液一定要澄清，否则再次离心。
- ③ 在通风良好的地方操作。

操作步骤

- ① 标准管：取 200 μ L 8 个不同浓度的标准品，加入到 1.5 mL EP 管中；
测定管：取 200 μ L 待测样本，加入到 1.5 mL EP 管中。
 - ② 向步骤①中各管加入 650 μ L 显色剂工作液，盖上盖，充分混匀。
 - ③ 向步骤②中各管加入 150 μ L 试剂三。
 - ④ 盖上盖，充分混匀，45℃水浴 60 min 后流水冷却至室温。
 - ⑤ 将各管 1100 $\times$ g，离心 10 min。
 - ⑥ 取上清 200 μ L 于 96 孔板中，酶标仪 586 nm 处，测定各孔 OD 值。
- 注：试剂加入酶标孔时，应触酶标板底加入；加样要慢，避免产生气泡。
(气泡影响测定结果)。

操作表

	标准管	测定管
不同浓度的标准品(μ L)	200	--
待测样本(μ L)	--	200
显色剂工作液(μ L)	650	650
盖上盖，充分混匀		
试剂三(μ L)	150	150
盖上盖，充分混匀，45℃水浴 60 min 后流水冷却至室温，1100 $\times$ g，离心 10 min。取上清 200 μ L 于 96 孔板中，酶标仪 586 nm 处，测定各孔 OD 值		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：GBQ162）。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清（浆）等液体样本计算公式：

$$\text{LPO } (\mu\text{mol/L}) = (\Delta A_{586} - b) \div a \times f$$

组织样本计算公式(按蛋白浓度计算)：

$$\text{LPO } (\mu\text{mol/gprot}) = (\Delta A_{586} - b) \div a \times f \div C_{\text{pr}}$$

组织样本计算公式(按组织鲜重计算)：

$$\text{LPO } (\mu\text{mol/kg wet weight}) = (\Delta A_{586} - b) \div a \times f \div m \times V$$

注解：

y：标准 OD 值-空白 OD 值

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA_{586} ：测定 OD 值-空白 OD 值

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr} ：样本的蛋白浓度（gprot/L）

m：组织样本匀浆重量（g）

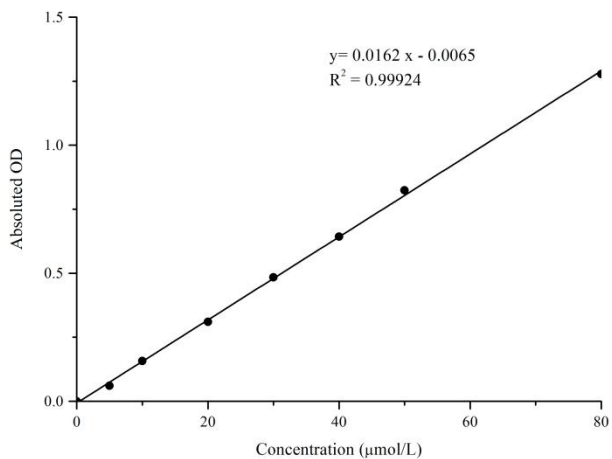
V：组织样本匀浆液体积（mL）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.70-80 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	3.5 %
灵敏度	0.70 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	3.1 %
平均回收率	99 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



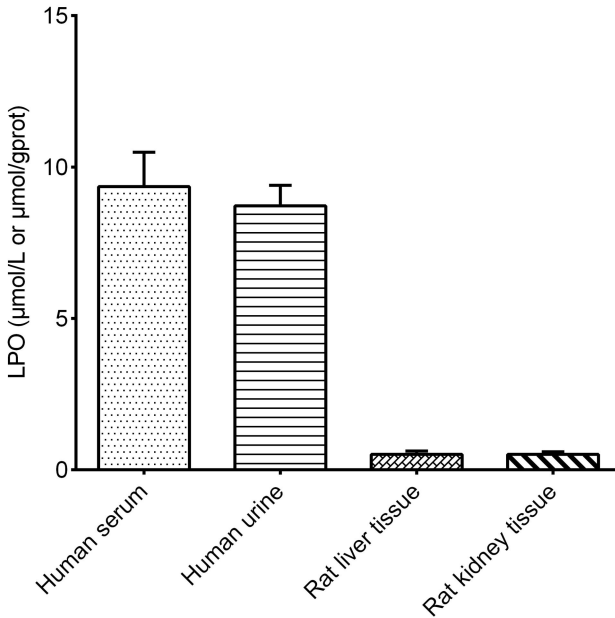
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取0.2 mL人血清, 按操作操作, 结果如下: 标准曲线: $y = 0.0162x - 0.0065$, 空白管平均OD值为0.073, 测定管平均OD值为0.219, 计算结果为:

$$\text{LPO } (\mu\text{mol/L}) = (0.219 - 0.073 + 0.0065) \div 0.0162 \times 1 = 9.41 \mu\text{mol/L}$$

按照操作过程, 测定人血清 (加样量200 μL)、人尿液 (加样量200 μL)、大鼠肝脏组织 (10%组织匀浆的蛋白含量13.10 gprot/L, 加样量200 μL)、大鼠肾组织 (10%组织匀浆的蛋白含量9.26 gprot/L, 加样量200 μL) 中LPO含量 (如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测
样本测量结果>80 $\mu\text{mol/L}$	样本浓度太高	选择合适稀释倍数,重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H₂O₂ generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatform induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675
11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on

monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573

12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C,Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*.2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell

Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113

22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- β Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508