（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K176-M

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：E-BC-K318-M）。

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 μmol/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 μL 8 个不同浓度的标准品，加入到 1.5 mL EP 管中；
测定管：取 200 μL 待测样本，加入到 1.5 mL EP 管中。

② 向步骤①中各管加入 650 μL 显色剂工作液，盖上盖，充分混匀。

③ 向步骤②中各管加入 150 μL 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 × g，离心 10 min。

⑥ 取上清 200 μL 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(μL)	200	--
待测样本(μL)	--	200
显色剂工作液(μL)	650	650
盖上盖，充分混匀		
试剂三(μL)	150	150
盖上盖，充分混匀，45℃水浴 60 min 后流水冷却至室温，1100 × g，离心 10 min。取上清 200 μL 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：E-BC-K318-M）。

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：

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

组织样本计算公式(按蛋白浓度计算)：

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

组织样本计算公式(按组织鲜重计算)：

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

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）

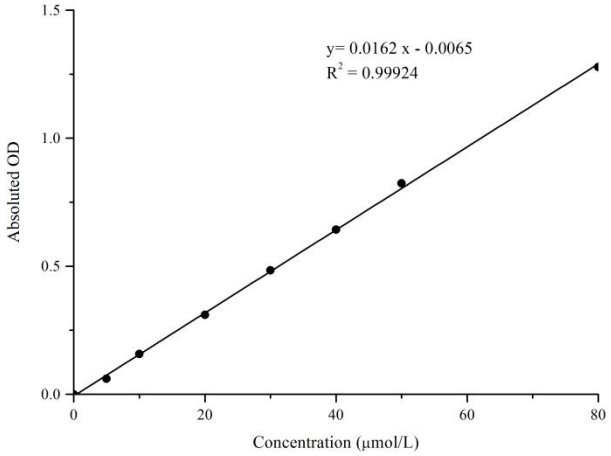
V：组织样本匀浆液体积（mL）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.70-80 μmol/L	**平均批间差**	3.5 %
灵敏度	0.70 μmol/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)



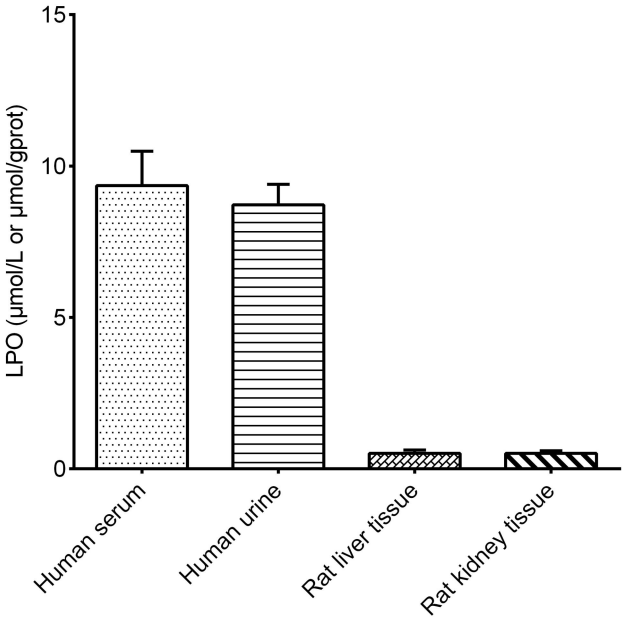
附录2 实例分析

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：

$$LPO（\mu mol/L）= (0.219-0.073+ 0.0065) \div 0.0162\times1= 9.41\ \mu mol/L$$

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 μmol/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. Zhang L , Shi W Y ,Jia-Ying XuYan LiuShi-Jia WangJia-Yang ZhengYun-Hong LiLin-Xi YuanLi-Qiang Qin.Protective effects and mechanism of chemical- and plant-based selenocystine against cadmium-induced liver damage[J].Journal of Hazardous Materials, 2024, 468(Apr.15):133812.1-133812.12.DOI:10.1016/j.jhazmat.2024.133812.

2. Wu Z , Chen K , Mo W ,et al.Multimodal enhancement of ferroptosis for synergistic cascade colorectal cancer therapy[J].Chemical Engineering Journal, 2024, 498(000):15.DOI:10.1016/j.cej.2024.155048.

3. Wang D , Zhang H , Liao X ,et al.Oral administration of Robinia pseudoacacia L. flower exosome-like nanoparticles attenuates gastric and small intestinal mucosal ferroptosis caused by hypoxia through inhibiting HIF-1α- and HIF-2α-mediated lipid peroxidation[J].Journal of Nanobiotechnology, 2024, 22(1):1-19.DOI:10.1186/s12951-024-02663-6.

4. Leng B , Deng L , Tan J ,et al.Targeting the Na+/K+ ATPase DR-region with DR-Ab improves doxorubicin-induced cardiotoxicity[J].Free Radical Biology & Medicine, 2023, 204(000):16.DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2023.04.008.

5. Xu J , Ding Y , Shi C ,et al.Identification of Cathepsin B as a Therapeutic Target for Ferroptosis of Macrophage after Spinal Cord Injury[J].Aging & Disease, 2024, 15(1).DOI:10.14336/AD.2023.0509.

6. Yang L , Zhang Z , Yao X ,et al.HNRNPL facilitates ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells by promoting S100A9 expression[J].Translational Oncology, 2024, 43.DOI:10.1016/j.tranon.2024.101908.