

抗脂质过氧化能力（LPO 抑制率）试剂盒说明书

（货号：BP10062W 微板法 96 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

过氧化脂质具有破坏生物膜的作用，导致细胞破坏、机体损伤。以硫代巴比妥酸（TBA）法测定外源添加的脂质过氧化体系的产物丙二醛，最终形成在 535nm 处有特征吸收峰的可有色产物。当加入抗脂质过氧化物质（LPO）时，它能抑制外源脂质过氧化体系中产物丙二醛的产生，从而使溶液在 535nm 处光吸收减弱。故可以通过测定 A535 值来评价抗脂质过氧化物质的能力即抑制脂质过氧化（LPO）能力。

二、试剂盒组分与配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 18mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	粉剂 4 瓶	4℃ 避光保存	每瓶： 1. 开盖前注意使粉体落入底部（可手动甩一甩）； 2. 每瓶再加 3mL 试剂一，超声 20min（周围以冷水冷却），最后是乳白色液体，三天内用完。
试剂三	液体 1mL×1 支	4℃ 保存	1. 用前用蒸馏水稀释 10 倍后再使用； 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂四	液体 20mL×1 瓶	4℃ 保存	1. 若有沉淀析出，可超声溶解； 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

① 组织样本：称取 0.1g 样本（若是干样可取 0.02-0.05g），加入 1mL 的 80%乙醇（自备）进行匀浆，匀浆后转入 2mL 离心管中；于 50℃，200-300W 条件下超声提取 30min（间隔 5min 振荡混匀一次）。若有损耗需用 80%乙醇定容至 1mL，12000rpm 室温离心 10min，取上清待测。

② 液体：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

③ 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 的 80%乙醇（自备）进行匀浆；于 50℃，200-300W 条件下超声提取 30min（间隔 5min 振荡混匀一次）。若有损耗需用 80%乙醇定容至 1mL，12000rpm 室温离心 10min，取上清待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（ 10^4 个）：提取液（mL）为 1000~5000:1 比例进行提取。

2、检测步骤：

① 酶标仪预热 30min 以上（等待仪器过自检程序亦可），调节波长至 535nm。

② 不同样本清除能力不一，可先选取 2 个样本做检测，在 EP 管中依次加入下列试剂：

试剂组分 (μL)	测定管	空白管
样本	100	
蒸馏水		100
试剂二	100	100
试剂三	100	100
混匀, 避光于 37°C 孵育 30min		
试剂四	200	200
95°C 孵育 15min, 迅速冷却, 5000r/min 离心 10min, 取上清 200μL 至 96 孔板中, 于 535nm 测定。		

【注】：若 A 测定值小于 0.15, 可对样本用提取液即 80%乙醇稀释后再测定; 或若 A 测定大于等于空白管, 需加大样本取样质量 W, 则改变后的 D 和 W 需代入公式计算。

五、结果计算：抗脂质过氧化能力或 LPO 抑制率 $\% = (A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{空白}} \times 100\%$