

CheKine™ 晚期氧化蛋白产物 (AOPP) 检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1060

规格: 100 T/100 S

批号: 见产品标签

	检测范围: 5-100 nmol/mL		灵敏度: 2.5 nmol/mL
	适用样本: 细胞、动植物组织、血清 (浆)		
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月		

01 背景与原理

晚期氧化蛋白产物 (AOPP) 是新近发现的一类具有促炎活性的尿毒症毒素, 是血浆蛋白遭受活性氧系 (ROS) 攻击后形成的氧化修饰产物。AOPP 能激发单核细胞和中性粒细胞, 刺激以肿瘤坏死因子 TNF- α 为主的大量促炎性细胞因子的合成、释放, 促进产生更多的活性氧, 从而诱导和加重全身氧化应激和炎症状态。AOPP 与晚期糖基化终末产物 (Advanced Glycation End-Product, AGE) 蛋白很相似, 也发挥着相似生物功能。AOPP 是肾并发症、动脉粥样硬化、糖尿病、代谢综合征、免疫性疾病和恶性肿瘤等疾病的重要检测指标。

本试剂盒检测原理是样品或标准品与引发剂和终止液反应, 产物在 340 nm 处有吸收峰, 通过检测 340 nm 处 OD 值, 通过与标准曲线比对, 确定样品中 AOPP 的含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格	储存条件
	96 T	
Extraction Buffer (10 $\times$)	15 mL	4℃
Reagent I	1.5 mL	4℃, 避光保存
Reagent II	3 mL	4℃
Standard	1 mL	4℃, 避光保存
AOPP-HSA Positive Control	50 μ L	-20℃
Free-HSA Negative Control	50 μ L	-20℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	PBS/去离子水	处理样本/试剂配制、稀释 Standard 用
其他	匀浆器（组织样本）、超声破碎仪、冰盒、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer (1×)	临用前配制，用去离子水按 1:9 稀释至 1×，混匀备用。	现用现配
Reagent I	即用型；使用前，平衡到室温	4℃避光保存
Reagent II	即用型；使用前，平衡到室温	4℃保存。有一定刺激性，注意防护
Standard	即用型；使用前，平衡到室温	4℃保存。有一定刺激性，注意防护
Working AOPP-HSA Positive Control	临用前配制，根据实验用量现用现配：用 Extraction Buffer (1×)按 1:19 稀释，混匀备用。	用不完的试剂-20℃避光分装保存 1 个月，避免反复冻融
Working Free-HSA Negative Control	临用前配制，根据实验用量现用现配：用 Extraction Buffer (1×)按 1:19 稀释，混匀备用。	用不完的试剂-20℃避光分装保存 1 个月，避免反复冻融

05-1-2 标准品配制

按照如下表格，用去离子水将 1000 nmol/mL Standard 稀释为 100、80、60、40、20、10、5 nmol/mL 的标准溶液。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	1000 nmol/mL Standard 体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (nmol/mL)
Std.1	100	900	100
Std.2	80	920	80
Std.3	60	940	60
Std.4	40	960	40
Std.5	20	980	20
Std.6	10	990	10
Std.7	5	995	5
空白	0	1000	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- **细胞样本：**收集 5×10^6 个细胞，用冷的 PBS 清洗细胞，800 g 离心 2 min 后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer (1×)，冰浴超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 13000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **动植物组织：**称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer (1×)，冰浴匀浆，13000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **血清和血浆：**用 Extraction Buffer (1×)稀释 5 倍后直接检测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备：**预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. **检测体系配制：**按如下体系在 96 孔 UV 板中进行检测体系配制。对照孔（选做），空白孔和标准孔一般只做 1 次。

试剂	测定孔 (μL)	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	阳性对照孔 (选做) (μL)	阴性对照孔 (选做) (μL)
样本	200	0	0	0	0
Extraction Buffer (1×)	0	200	0	0	0
Working AOPP-HSA Positive Control	0	0	0	200	0
Working Free-HSA Negative Control	0	0	0	0	200
Standard	0	0	200	0	0
Reagent I	10	10	10	10	10
Reagent II	20	20	20	20	20

3. **混匀，37℃孵育 5 min。**
4. **吸光度检测：**测定 340 nm 处吸光值 A，分别记为 A_{测定}、A_{空白}、A_{标准}、A_{阳对}、和 A_{阴对}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{阳对}} = A_{\text{阳对}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{阴对}} = A_{\text{阴对}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 y 值 (nmol/mL)。

3. 样本 AOPP 含量计算

● 按细胞密度计算

$\text{AOPP 含量 (nmol/10}^4 \text{ cells)} = y \times V_{\text{样}} \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \times n = y \div N \times n$

● 按样本质量计算

$\text{AOPP 含量 (nmol/g)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \times n = y \div W \times n$

● 按血清和血浆体积计算

$\text{AOPP 含量 (nmol/mL)} = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = y \times n$

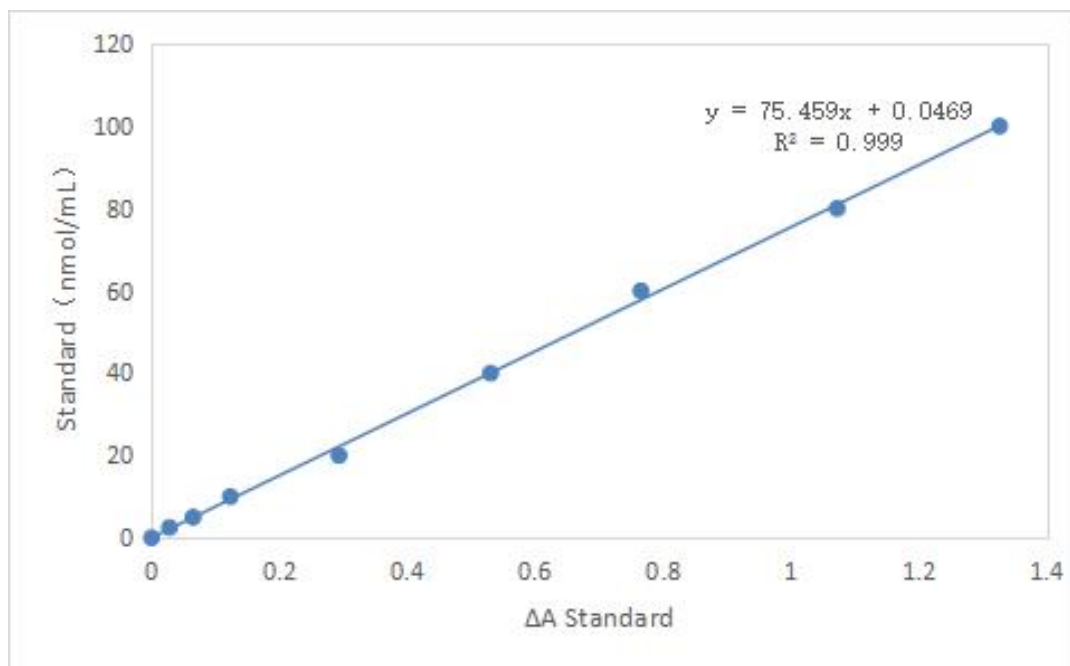
● 按蛋白浓度计算

$\text{AOPP 含量 (nmol/mg prot)} = (y \times V_{\text{样}}) \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times n = y \div \text{Cpr} \times n$

$V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, 0.2 mL; $V_{\text{提取}}$: 加入 Extraction Buffer (1×) 体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; N: 细胞数量, 以 10^4 为单位 (例如细胞数量为 5×10^6 , $N=500$); n: 样品稀释倍数。

07 结果展示

典型标准曲线:



示例-1: 取兔血清稀释 5 倍, 按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.842 - 0.07 = 0.772$, 代入标准曲线, 计算 $y = 58.301$ 。按样本体积计算得: AOPP 含量(nmol/mL) = $y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = y \times n = 291.505 \text{ nmol/mL}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办?

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 100 \text{ nmol/mL}$ 的 $\Delta A_{\text{测定}}$, 需用 Extraction Buffer (1×)适当稀释 (计算公式中乘以相应稀释倍数) 或减少提取用样本量。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.002$, 可适当提高样本量。

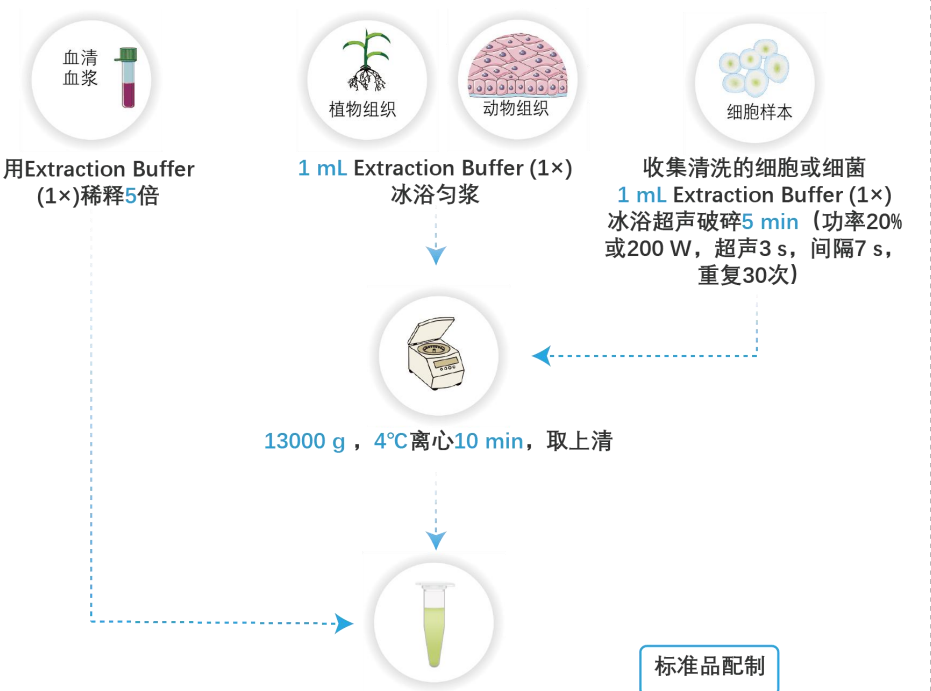
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1030	CheKine™ 超氧化物歧化酶 (SOD) 活力检测试剂盒 (微量法)
KTB1040	CheKine™ 过氧化氢酶 (CAT) 活性分析试剂盒 (微量法)
KTB1910	CheKine™ 活性氧 (ROS) 检测试剂盒 (荧光法)
KTB1150	CheKine™ 过氧化物酶 (POD) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1500	CheKine™ 总抗氧化能力 (TAC) 检测试剂盒 (微量法)

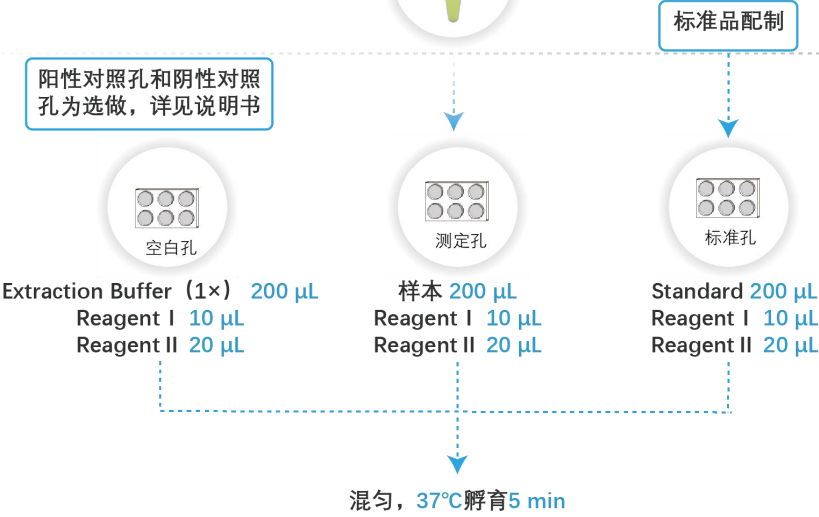
CheKine™ 晚期氧化蛋白产物（AOPP）检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB1060)

样本处理



体系配置



数据检测

