

4-羟基壬烯酸(4-HNE)检测试剂盒

(用于血清、血浆、细胞培养上清液和其它生物体内)

原理

4-羟基壬烯酸(HNE)是两个强毒力的脂质过氧化终产物之一，常常作为判断脂质过氧化的指标。HNE能够通蛋白结合形成稳定的、加合物状态的晚期脂质过氧化终产物，这种被HNE修饰的蛋白质在细胞内会进一步导致被氧化蛋白在功能和结构上的改变。

本实验采用比色法在酶标板上反应，标准品和样品中的4-HNE与底物工作液显色，最后在550nm处测OD值，4-HNE浓度与OD值成正比，可通过绘制标准曲线求出标本中4-HNE浓度。

试剂盒组成 (2-8℃保存)

酶标板 (Coated Wells)	96孔	标准品 (Standards): 8ng/ml	0.5ml
底物工作液 (AAP Solution)	12ml	酶标抗体工作液 (Enzyme Conjugate)	2.4ml

准备试剂与收集血样

- 收集标本：血清、血浆 (EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝)、细胞培养上清液、组织匀浆等尽早检测，2-8℃保存48小时；更长时间须冷冻 (-20℃或-70℃) 保存，避免反复冻融。
- 标准品液配制：设标准管8管，第一管加蒸馏水200ul，第二至第八管加入蒸馏水200ul。在第一管中加入8ng/ml的标准品溶液200ul混匀后用加样器吸出200ul，移至第二管。如此反复作对倍稀释，从第七管中吸出200ul弃去。第八管为空白对照。

检测程序

- 加样：每孔各加入标准品或待测样品5ul。
- 每孔加入底物工作液100ul。
- 每孔加酶标抗体工作液20ul。振荡混匀后将反应板置37℃15分钟。
- 30分钟内用酶标仪在550nm处测吸光值。

结果计算与判断

- 所有OD值都应减除空白值后再行计算。
- 以标准品4000、2000、1000、500、250、125、62.5、0 pg/ml为横坐标，OD值为纵坐标，在坐标纸上作图，画出标准曲线。
- 根据样品OD值在该曲线图上查出相应4-HNE含量。

试剂盒性能

- 灵敏度：最小的4-HNE检测浓度小于30pg/ml。
- 特异性：可同时检测重组或天然的4-HNE。不与其它细胞因子有交叉反应。
- 重复性：板内、板间变异系数均小于10%。

注意事项

- 以上标准孔及待测样品均建议做复孔，每次测定应同时做标准曲线。
- 板条开封后剩余板条要再封好，保持板条干燥。
- 本试剂盒宜置4℃冰箱保存。
- 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
- 样本如果浑浊需要离心或稀释后检测。