

## 脂质过氧化检测

(1) 细胞接种于 6 孔板中，待汇合度达到 70%-80% 时进行实验。阳性对照组加入含 1:1000 稀释 LpoUp 试剂的培养基，置于 37 °C、5% 二氧化碳培养箱孵育 4 h 以诱导过氧化；实验组按预设分组进行相应药物处理。

(2) 避光条件下，取适量 2 mM BDPY 581/591 C11 储备液，使用 PBS 按 1:1000 比例稀释，配制成终浓度为 2 μM 的染色工作液。注意此工作液需现配现用，且配制全过程保持避光。

(3) 吸弃孔内旧培养基，加入 1 mL PBS 沿孔壁轻轻润洗 1 次。加入 1 mL 配制好的染色工作液覆盖细胞，将培养板置于 37 °C 细胞培养箱中避光孵育 30 min。

(4) 孵育结束后，吸尽染色液，加入 PBS 缓冲液轻轻洗涤细胞 3 次，操作时注意枪头紧贴孔壁缓慢注水，避免水流直接冲击细胞致其脱落。洗涤完成后，向孔中加入 2 mL PBS 覆盖细胞。

(5) 将样品置于倒置荧光显微镜下观察。设置双通道参数：氧化态检测通道 (Ex/Em: 488/510 nm, 绿色荧光) 与还原态检测通道 (Ex/Em: 581/591 nm, 红色荧光)。

(5) 每孔随机选取 3 个视野进行拍照，使用 ImageJ 软件分析荧光强度，计算 Green/Red 荧光强度比值，以此量化细胞内的脂质过氧化水平。