

丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (TBA 荧光法)

产品货号: BA1559

产品规格: 50T/100T

产品简介:

动物或植物细胞发生氧化应激(oxidative stress)时, 会发生脂质氧化。丙二醛(Malondialdehyde, MDA)是一种生物体脂质氧化的天然产物, 一些脂肪酸氧化后逐渐分解为一系列包括MDA在内的复杂化合物, 此时通过检测MDA的水平即可检测脂质氧化的水平, 因此MDA的测定被广泛用作脂质氧化的指标。生物体内的一些其它生化反应也会产生MDA, 例如thromboxane synthase也可以催化产生, 但只要在测定时设置适当对照即可观察到脂质氧化水平的变化。

乐业生物丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA荧光法, MDA Assay Kit)又称脂质氧化(MDA)检测试剂盒, 是采用一种基于MDA和硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)反应产生红色产物的显色反应, 随后通过荧光法用于对血浆、血清、尿液、动植物组织或细胞裂解液中MDA进行定量检测, 广泛用于脂质氧化(lipid peroxidation)水平检测, 丙二醛在较高温度及酸性环境中可与TBA发生反应形成红色的MDA-TBA加合物, MDA-TBA加合物在535nm处有最大吸收, 以515nm为激发光, 据此可以进行荧光比色法进行检测。本试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成

试剂名称	50T	100T	保存条件
试剂(A): MDA沉淀液	25ml	50ml	室温
试剂(B): 磷酸钨酸溶液	25ml	50ml	室温, 避光
试剂(C): MDA标准品(1mmol/L)	0.2ml	0.4ml	-20℃, 避光
试剂(D): TBA	0.4g	0.8g	室温, 避光
试剂(E): TBA稀释液	50ml	100ml	室温, 避光
试剂(F): 抗氧化剂	2.5ml	5ml	2-8℃
试剂(G): MDA分离液	2×100ml	4×100ml	室温, 避光

自备材料:

1. 蒸馏水
2. 离心管、小试管或96孔板
3. 荧光分光光度计或荧光酶标仪
4. 离心机、水浴锅或恒温箱

操作步骤 (仅供参考):

1. 样本处理:

①血清、血浆、尿液、脑脊液样本: 从待测样本中分离出的血清或血浆不应有溶血。取20 μ l待测液体样本, 依次加入0.5ml MDA沉淀液、3.5ml蒸馏水和0.5ml磷酸钨酸溶液, 摇匀, 室温静置5min, 3500r/min离心10min, 弃上清。沉淀加入1ml蒸馏水, 振荡混匀2min, 以便充分溶解沉淀(MDA样品), 即获得MDA待测液。

②组织、细胞等样品: 组织或细胞可以使用PBS或Western及IP细胞裂解液等进行匀浆或裂解。匀浆或裂解组织时, 组织重量占匀浆液或裂解液的比例应为10%; 对于细胞, 每10⁶个细胞使用0.1ml裂解液或匀浆液。匀浆或裂解后, 4℃8000~12000g离心10min, 取上清用于后续测定。匀浆或裂解等样品制备步骤宜在冰浴或4℃进行操作, 样品准



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

备完毕后可以用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的MDA含量。取20 μ l待测匀浆后提取的上清，依次加入0.5ml MDA沉淀液、3.5ml蒸馏水和0.5ml磷钨酸溶液，摇匀，室温静置5min，3500r/min离心10min，弃上清。沉淀加入1ml蒸馏水，振荡混匀2min，以便充分溶解沉淀(MDA样品)，即获得MDA待测液

③本试剂盒对于样品中的常见化学成分的兼容性参考下表：

试剂类别	化学成分	是否干扰
缓冲液	HEPES(100mM)	否
	Borate (50mM)	否
	Phosphate (100mM)	否
	Tris (25mM)	否
去垢剂	CHAPS ($\leq 1\%$)	否
	Triton X-100 ($\leq 1\%$)	否
	Tween 20 ($\leq 1\%$)	否
抑制剂/螯合剂	PMSF ($\leq 200\mu$ M)	否
	EDTA (≤ 1 mM)	否
	EGTA (≤ 1 mM)	否
	Antipain ($\leq 100\mu$ g/ml)	否
	Chymostatin ($\leq 10\mu$ g/ml)	否
	Leupeptin ($\leq 10\mu$ g/ml)	否
其他	Trypsin ($\leq 10\mu$ g/ml)	否
	Glycerol ($\leq 10\%$)	否
	Sucrose (250mM)	是

2. 稀释标准品：取适量MDA标准品(1mmol/L)用蒸馏水稀释至0.5、1、2、5、10 μ M(如果进行简易快速检测，标准品直接稀释0.5 μ M)。
3. 配制TBA工作液：称取适量TBA，用TBA稀释液配制成浓度为0.68%的TBA工作液。例如取34mg TBA用5ml TBA稀释液配制，最终浓度即为0.68%的TBA工作液。TBA工作液需完全溶解后再使用，可以加热到60 $^{\circ}$ C促溶，并可通过反复剧烈Vortex促溶。
4. MDA加样：在离心管或其它适当容器内参考下表设置检测反应体系，依次加入试剂：

加入物质	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	1ml	-	-
MDA标准品	-	1ml	-
MDA待测液	-	-	1ml
TBA工作液	1ml	1ml	1ml
抗氧化剂	30 μ l	30 μ l	30 μ l

混匀，加盖，95 $^{\circ}$ C水浴煮沸60min(勿动)，加热时务必注意避免液体暴沸溅出；如果使用加热块(Heat block)进行加热注意用重物压紧离心管盖；如果使用沸水浴，则需使用可把盖子锁死的离心管或螺旋盖离心管，或用Parafilm封住离心管口，用针头刺一小孔；最方便和准确的加热方法是使用带有热盖并可以加热金属浴。

5. MDA测定：水浴或流水冷却至室温，加入MDA分离液3.5ml，振摇并抽提1min，3000r/min离心5min，取上清，蒸馏水调零，用荧光光度计或荧光酶标仪检测荧光强度，激发光515nm，发射光553nm。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

计算:

对于血浆、血清或尿液等样品,以MDA标准品浓度为横坐标,以对应的荧光强度为纵坐标,制作标准曲线,根据标准曲线计算处MDA提取液的浓度;

如果进行简易快速检测,直接以0.5 μ M标准品进行计算获得MDA的摩尔浓度,对于细胞、或组织样品,计算出样品溶液中的MDA含量后,可以通过单位重量的蛋白含量或组织重量等来表示最初样品中的MDA含量,例如 μ mol/mg蛋白或 μ mol/mg组织。

简易快速血清、血浆、尿液等液体样品中MDA含量计算公式:

$$\text{MDA浓度}(\mu\text{mol/L}) = (\text{A}_{\text{测定}} - \text{A}_{\text{空白}}) / (\text{A}_{\text{标准}} - \text{A}_{\text{空白}}) \times 25$$

简易快速细胞、组织样品中MDA含量计算公式:

$$\text{MDA浓度}(\mu\text{mol/mg}) = (\text{A}_{\text{测定}} - \text{A}_{\text{空白}}) / (\text{A}_{\text{标准}} - \text{A}_{\text{空白}}) \times 25 / \text{蛋白质浓度}(\text{mg/ml})$$

式中: $\text{A}_{\text{测定}}$ = 测定孔的荧光强度

$\text{A}_{\text{标准}}$ = 标准孔的荧光强度

$\text{A}_{\text{空白}}$ = 空白孔的荧光强度

参考区间: 健康成年人血清MDA: 1.63 \pm 0.38 μ mol/L
60岁以上的健康成年人血清MDA: 2.14 \pm 0.56 μ mol/L

注意事项:

1. 上述低温试剂避免反复冻融,以免失效或效率下降。
2. 参考取样量:血清、血浆、尿液取20 μ l;低密度脂蛋白悬液取20~40 μ l;食用油取30 μ l;肝脏、心肌、肌肉等,取5%或10%匀浆20~40 μ l。
3. 待测样本如不能及时测定,应置于-20 $^{\circ}$ C保存,4天内稳定。
4. 避免使用EDTA、枸橼酸、氟化钠、草酸等抗凝剂。
5. 稀释后的MDA标准品4 $^{\circ}$ C避光保存,3个月内有效。
6. TBA工作液应4 $^{\circ}$ C避光保存,1个月有效。
7. MDA测定步骤中,离心分层抽取上层时,若出现浑浊,可加1滴无水乙醇。

有效期: 12个月有效。4 $^{\circ}$ C运输, -20 $^{\circ}$ C保存。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话:400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com