脂质氧化（MDA）检测试剂盒

产品货号：BA3242

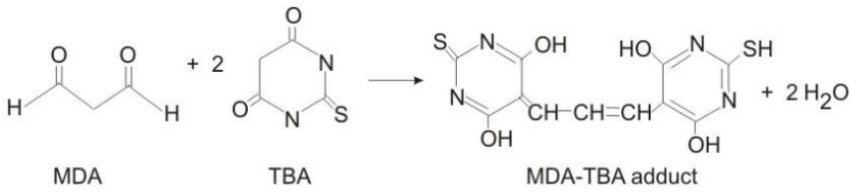
产品规格：100T

产品简介：

脂质氧化(MDA)检测试剂盒采用一种基于丙二醛（Malondialdehyde，MDA）和硫代巴比妥酸（thiobarbituric acid，TBA）反应产生红色产物的显色反应，随后通过比色法用于对血浆、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（lipidperoxidation）水平检测的试剂盒。

MDA是一种生物体脂质氧化的天然产物。动物或植物细胞发生氧化应激（oxidative stress）时，会发生脂质氧化。一些脂肪酸氧化后逐渐分解为一系列复杂的化合物，其中包括MDA。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，例如血栓素合成酶（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。

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，反应原理如下：



MDA-TBA加合物在535nm处有最大吸收，据此可以通过比色法进行检测。另外，MDA-TBA加合物也可以在535nm被激发产生最大发射波长553nm，据此也可以进行荧光检测。

本试剂盒中采用了特殊的抗氧化剂，可以有效地抑制样品在检测过程中产生新的MDA，并且可以把部分MDA天然形成的聚丙二醛分解成MDA使检测更加准确。

本试剂盒可以检测低达1μM的MDA，也可检测高达200μM的MDA （参考图1）。血浆、血清样品中的MDA含量通常在约2-4μM，尿液中的MDA含量通常在约5-30μM，在本试剂盒的检测范围内，可以直接用本试剂盒检测血浆、血清、尿液样品等。

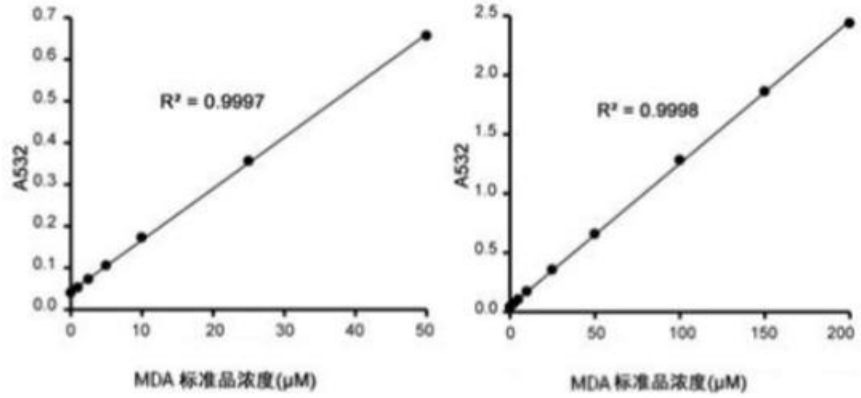


图 1. 不同浓度标准品使用本试剂盒的检测效果图。实测数据会因检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

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

产品内容：

产品组成	100T	保存条件
TBA	25mg	-20℃
TBA稀释液	15ml	-20℃
抗氧化剂	0.3ml	-20℃，避光
标准品（1mM）	0.2ml	-20℃，避光

使用方法：

一、样品的准备：

(a) 血浆、血清或尿液样品制备后可以直接用于MDA测定。

(b) 组织或细胞可以使用PBS或裂解液进行匀浆或裂解。对于组织，组织重量占匀浆液或裂解液的比例为10%；对于细胞，每1×10^6的细胞使用0.1ml裂解液或匀浆液。匀浆或裂解后，10,000g-12,000g离心10分钟取上清用于后续测定。对于一些特殊样品，离心不能获得澄清的上清溶液的，可以使用0.2μm孔径的过滤器过滤以获得澄清的样品溶液。匀浆或裂解等样品制备步骤建议在冰浴或4°C进行操作。样品准备完毕后建议用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的MDA含量。

(c) 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	试剂类别	化学成分
缓冲试剂	Borate (≤50mM)	抑制剂/螯合剂	Antipain (≤100μg/ml)
	HEPES (≤100mM)		Chymostatin (≤10μg/ml)
	Phosphate (≤100mM)		Leupeptin (≤10μg/ml)
	Tris (≤25mM)		PMSF(≤200μM)
去垢剂	CHAPS (≤1%)		Trypsin (≤10μg/ml)
	Triton X-100 (≤1%)		EDTA (≤1mM)
	Tween 20 (≤1%)		EGTA(≤1mM)
其它试剂	Sucrose (250mM)(不建议使用)		
	Glycerol (≤10%)		

二、试剂盒的准备工作：

(a) TBA储存液的配制：称取适量TBA，用冰乙酸（用户自备）配制成浓度为0.37%的TBA储存液。例如18.5mg TBA用5ml冰乙酸配制，或者25mg TBA用6.76ml冰乙酸配制，最终浓度即为0.37%。TBA储存液较难溶解，需加热到70°C，并通过剧烈涡旋振荡以促进溶解。配制好的TBA储存液室温避光保存，至少3个月内有效。

(b) MDA检测工作液的配制：根据待测定的样品数（含对照），参考下表在临检测前新鲜配制适量的MDA检测工作液。

检测样品数	1	10	20	50
TBA稀释液	150μl	1500μl	3000μl	7500μl
TBA储存液	50μl	500μl	1000μl	2500μl
抗氧化剂	3μl	30μl	60μl	150μl

注：MDA检测工作液较难溶解，可以70°C加热，并剧烈涡旋振荡以促进溶解。也可以通过超声处理以促进溶解。配制好的MDA检测工作液必须当天使用。

(c) 标准品的稀释：取适量标准品用蒸馏水稀释至1、2、5、10、20、50μM，用于后续制作标准曲线。如果样品中MDA的浓度很高，可以增加100、150和200μM的标准品浓度。

三、样品测定：

(a) 在离心管或其它适当容器内加入100μl匀浆液、裂解液或PBS等适当溶液作为空白对照，加入100μl上述不同浓度标准品用于制作标准曲线，加入100μl样品用于测定；随后加入0.2ml MDA检测工作液。可参考下表设置检测反应体系：

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

	样品	标准品	空白对照
待测样品	100μl	-	-
标准品	-	100μl	-
MDA检测工作液	200μl	200μl	200μl
匀浆液、裂解液或PBS	-	-	100μl

(b) 混匀后，100°C或沸水浴加热15分钟。加热时务必注意避免液体暴沸溅出。如果使用加热块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，或用封口膜封住离心管口，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0.5ml PCR管的PCR仪。

(c) 水浴冷却至室温，1000g室温离心10分钟。取200μl上清加入到96孔板中，随后用酶标仪在532nm测定吸光度。如果不方便测定532nm的吸光度，也可以测定530-540nm之间的吸光度。可以设定450nm为参考波长进行双波长测定。

(d) MDA含量的计算：对于血浆、血清或尿液等样品可以直接根据标准曲线计算获得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μmol/mg蛋白或μmol/mg组织。

注意事项：

1. 冰乙酸，即TBA配制液需用户自备。
2. 如果没有检测到MDA，可能样品中MDA浓度过低，在检测组织或细胞的MDA时，请使用更多的组织或细胞，不要稀释样品。
3. 醛以及较高浓度的可溶性糖（例如250mM蔗糖/葡萄糖）对反应有干扰，可溶性糖与TBA显色反应的产物在532nm也有吸收（最大吸收在450nm）。如果可溶性糖对测定有干扰，可以通过测定450nm作为参考波长进行双波长测定，消除其干扰。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：

-20°C避光保存，有效期一年。