

丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (TBA比色法)

产品货号: BA1558

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。

尚宝生物丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA比色法, 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(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, 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): TBA	0.4g	0.8g	室温, 避光
试剂(B): TBA稀释液	50ml	100ml	室温, 避光
试剂(C): 抗氧化剂	2.5ml	5ml	4℃
试剂(D): MDA标准品(1mmol/L)	0.2ml	0.4ml	-20℃, 避光
试剂(E): MDA检测液	5ml	10ml	室温, 避光
试剂(F): MDA分离液	2×75ml	2×150ml	室温, 避光

自备材料:

1. 生理盐水或PBS
2. 离心机、离心管、96孔板
3. 酶标仪或分光光度计
4. 水浴锅或恒温箱

操作步骤 (仅供参考):

1. 准备样品:

①血清、血浆、尿液、脑脊液样品: 从待测样本中分离出的血清或血浆不应有溶血, 直接检测, 如超过线性范围, 用生理盐水或PBS稀释后检测。

②组织、细胞等样品: 组织或细胞可以使用PBS或RAPI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 10^6 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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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 ($\leq 200\mu\text{M}$)	否
	EDTA ($\leq 1\text{mM}$)	否
	EGTA ($\leq 1\text{mM}$)	否
	Antipain ($\leq 100\mu\text{g/ml}$)	否
	Chymostatin ($\leq 10\mu\text{g/ml}$)	否
	Leupeptin ($\leq 10\mu\text{g/ml}$)	否
其他	Trypsin ($\leq 10\mu\text{g/ml}$)	否
	Glycerol ($\leq 10\%$)	否
	Sucrose (250mM)	是

2. 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68mg TBA用10ml 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℃促溶, 并可通过反复剧烈Vortex促溶。配制好的TBA工作液4℃避光保存, 至少1个月内有效。
3. 稀释系列标准品: 取适量MDA标准品(1mmol/L), 用恰当溶液稀释至1、2、5、10、20 μM (如果进行简易快速检测, 标准品直接稀释10 μM)。注意: 待测样品为血清、血浆时, 标准品宜用生理盐水稀释; 待测样品由匀浆液、裂解液、PBS获得时, 标准品宜用相同溶液稀释。其原则是保证空白管、标准管、测定管具有可比性。配制好的MDA标准品4℃避光保存, 至少3个月内有效。
4. 配制MDA检测工作液: 临检测前, 根据待测定的样品数(含对照), 参考下表新鲜配制适量的MDA检测工作液。

检测次数	1次	10次	20次
TBA工作液	0.75ml	7.5ml	15ml
抗氧化剂	0.031ml	0.31ml	0.62ml
MDA检测液	0.075ml	0.75ml	1.5ml
MDA分离液	2.25ml	22.5ml	45ml
总体积	3.106ml	31.06ml	62.12ml

5. MDA加样: 在离心管或其它适当容器内加入0.08ml适当溶液作为空白对照(注意: 待测样品为血清、血浆时, 标准品宜用生理盐水稀释; 待测样品由匀浆液、裂解液、PBS获得时, 标准品宜用相同溶液稀释, 其原则是保证空白管、标准管、测定管具有可比性)。加入0.08ml上述不同浓度标准品用于制作标准曲线(如果进行简易快速检测, 直接加入浓度为10 μM 的标准品), 加入0.08ml样品用于测定; 随后加入3ml MDA检测工作液。可参考下表设置检测反应体系, 依次加入试剂:

加入物质(ml)	空白管	标准管	测定管
匀浆液、裂解液、PBS、生理盐水等	0.08	-	-
标准品	-	0.08	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

待测样品	-	-	0.08
MDA检测工作液	3	3	3

混匀, 加盖, 95℃水浴煮沸40min, 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。

6. MDA测定: 水浴或流水冷却至室温, 3000r/min离心15min或4000gr/min离心10min。取上清, 其颜色为黄色至棕红色, 蒸馏水调零, 比色杯光径为1cm, 分光光度计测定535nm处空白管、标准管、测定管的吸光度, 如果不方便也可以测定530~540nm之间的吸光度, 分别记为A_{空白}、A_{标准}、A_{测定}。

计算:

如果进行简易快速检测, 直接以10μM标准品进行计算, 获得MDA的摩尔浓度; 如果需要精确计算, 以MDA标准品浓度为横坐标, 以对应的吸光度为纵坐标, 制作标准曲线, 根据标准曲线计算处MDA提取液的浓度; 对于固体状组织, 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/g蛋白或组织。

简易快速血清、血浆、尿液等液体样品中MDA含量计算公式:

$$\text{MDA浓度}(\mu\text{mol/L}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 10$$

简易快速细胞、组织样品中MDA含量计算公式:

$$\text{MDA浓度}(\mu\text{mol/g}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 10 / \text{蛋白质浓度}(\text{mg/ml})$$

式中: A_{测定}=测定孔的吸光度

A_{标准}=标准孔的吸光度

A_{空白}=空白孔的吸光度

参考区间: 健康成年人血清MDA: 9.58±2.15μmol/L

健康成年人血浆MDA: 7.31±1.27μmol/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0.1ml; 低密度脂蛋白悬液取0.1~0.2ml; 食用油取0.03ml; 肝脏、心肌、肌肉等, 取5%或10%匀浆0.1~0.2ml。
3. 测定样品吸光度值较低时, 可将水浴延长至80min, 但应同时延长, 以免造成批间差异。
4. 待测样本如不能及时测定, 应置于-20℃保存, 4天内稳定。
5. 避免使用EDTA、枸橼酸、氟化钠、草酸等抗凝剂。

有效期: 12个月有效。4℃运输, -20℃保存。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com