

Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit

产品描述

丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 是生物体内脂质过氧化时分解形成的产物之一, MDA的含量在一定程度上可以反映出生物体内脂质过氧化的情况。因此MDA被广泛用作脂质过氧化的检测指标。

脂质过氧化MDA检测试剂盒 (Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit) 是一种通过硫代巴比妥酸 (Thiobarbituric acid, TBA) 检测MDA含量的试剂盒, 可以用于动植物组织或细胞裂解液、血浆、血清和尿液等样本的检测。其检测原理是MDA会与TBA反应生成红色产物, 该红色产物在535 nm处有特异性吸收, 因此可以通过比色法进行测定。同时其反应产物在535 nm处也可以被激发, 产生最大发射波长553 nm, 因此也可进行荧光检测。

本试剂盒提供抗氧化剂, 可以抑制样品在检测过程中产生新的MDA, 使检测更准确。同时本试剂盒可以检测低至1 μ M的MDA, 并在1-200 μ M内具有良好的线性关系。

组分和储存条件

Components	K2167-100 T	K2167-500 T
TBA	25 mg	125 mg
TBA Preparation Buffer	7 mL	35 mL
TBA Dilution Buffer	15 mL	75 mL
Antioxidant	300 μ L	1.5 mL
MDA Standard (1 mM)	200 μ L	1 mL

Store the kit at -20°C, stable for 1 year. TBA and the antioxidant should be stored away from light.

实验操作

1. 样品制备:

- 1) 血浆、血清或尿液样品制备后可直接用于检测。
- 2) 对于细胞, 收集细胞后按每 10^6 个细胞中加入100 μ L细胞裂解液 (推荐使用WB及IP细胞裂解液, 货号K1123) 冰上裂解, 裂解后10000-12000 g, 4°C离心10min, 取上清用于检测。
- 3) 对于组织, 按常规匀浆操作制成10%的匀浆后离心取上清进行检测。例如取0.1 g组织并用1 mL PBS或裂解液冰上匀浆, 然后10000g-12000g, 4°C离心10 min取上清进行检测。

***Note:**

- a) 细胞裂解或者组织匀浆操作都需要在冰上进行。
- b) 对于某些样品，如离心不能获得澄清上清，可以将上清用 0.22 μm 过滤器过滤获得澄清上清液。
- c) 同时，对于组织或细胞样品，制备完成后可以用 BCA 浓度测定试剂盒检测蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量细胞或组织内的 MDA 含量。

2. TBA 储存液配制: 称取适量 TBA，用 TBA Preparation Buffer 配成 0.37% 浓度的 TBA 储存液。如用 6.76 mL TBA Preparation Buffer 溶解 25 mg 的 TBA。TBA 较难溶解，需要加热到 70°C，并通过剧烈涡旋以促进溶解。配制好的 TBA 储存液可以室温避光保存，至少 3 个月有效。

3. MDA 工作液配制: 根据实验检测的样品数量，参考下表配制 MDA 工作液。其中抗氧化剂 Antioxidant 使用前需要回温至室温并观察是否有结晶。若有结晶可以 70°C 加热至完全溶解。同时 MDA 工作液配置完成后也需要 70°C 加热并剧烈涡旋以促进溶解，如有必要可进行适当超声，待组分完全溶解后使用。MDA 工作液需要现配现用。

检测样品数	1	10	20	50
TBA 储存液	50 μL	500 μL	1 mL	2.5 mL
TBA Dilution Buffer	150 μL	1.5 mL	3 mL	7.5 mL
Antioxidant	3 μL	30 μL	60 μL	150 μL

4. 标准品稀释: 用灭菌水梯度稀释 MDA Standard (1 mM)，用于后续制备标准曲线。MDA Standard 的梯度浓度可以设置为 1、2、5、10、20、50、100、150、200 μM 。梯度稀释标准品也需要现配现用。

5. 样品检测:

- 1) 在离心管中或其他合适容器中加入 0.1 mL 的 PBS 或细胞裂解液作为空白对照，然后加入 0.1 mL 上述梯度稀释标准品或样品，然后加入 0.2 mL MDA 工作液。检测体系可参考下表:

	空白对照	梯度稀释标准品	样品
PBS 或细胞裂解液	0.1 mL	-	-
梯度稀释标准品	-	0.1 mL	-
样品	-	-	0.1 mL
MDA 工作液	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL

- 2) 混匀反应体系后，100°C 金属浴或沸水浴加热 15 min。最准确的加热方法是使用带有热盖并可以加热 0.5 mL PCR 离心管的 PCR 仪。

***Note:** 如使用金属浴或沸水浴，加热时务必注意防止液体爆沸溅出。使用金属浴时可以用重物压住离心管盖；使用沸水浴时可以用封口膜封住离心管口并用针在盖上刺一小孔。

- 3) 随后水浴冷却至室温，1000 g 室温离心 10 min。每个样品取 200 μL 上清加入到 96 孔板中，然后用酶标仪检测 532 nm 处的吸光值。

4) 对于血浆、血清或尿液等样品可以直接根据标准曲线计算样品中MDA的摩尔浓度。对于细胞或组织样品，根据标准曲线计算出样品中的MDA含量后，可以通过单位重量的蛋白含量或组织重量表示最初样品中的MDA含量，如 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 蛋白或组织。

■ 注意事项

1. 本试剂盒在1-200 μM 内具有良好的线性关系，如果样品中MDA的浓度过高或者过低，请对样品做适当的稀释或者浓缩。
2. 醛或者高浓度的可溶性糖（如蔗糖）会干扰反应，可以通过设定450 nm作为参比波长进行双波长检测，以消除这类干扰物对反应的影响。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
4. 本产品仅限于科研使用，不得用于临床诊断或治疗。

APExBIO Technology

www.apexbt.com

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com