

脂质氧化(MDA)检测试剂盒

货号: RK05818

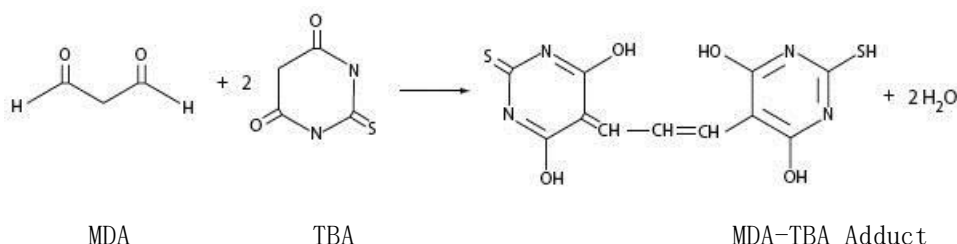
规格: 100次/500次

◆ 产品简介

本脂质氧化(MDA)检测试剂盒(Lipid Peroxidation MDA Assay Kit)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,然后通过比色法来定量检测血清、血浆、尿液、动植物组织或细胞裂解液中的MDA,广泛用于脂质氧化(lipid peroxidation)水平的检测。

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,相应的反应原理图如下:



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。

特点: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,使检测更加准确。同时本检测试剂盒在检测过程中可以把部分MDA天然形成的聚丙烯二醛分解成MDA,使对脂质氧化的测定更加准确。

本试剂盒检测MDA含量的有效范围为1 μM-200 μM(参考图1)。血浆、血清样品中的MDA含量通常在约2-4 μM,尿液中的MDA含量通常在约5-30 μM,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。

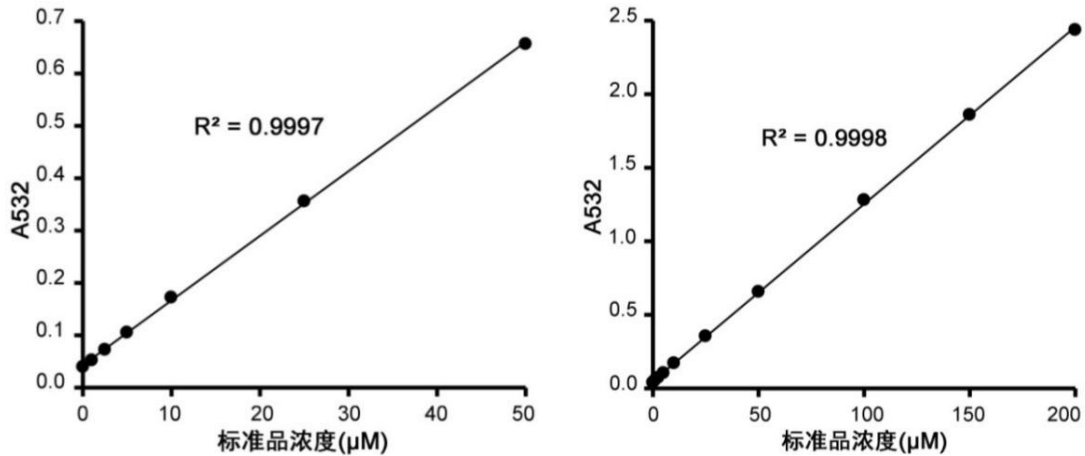


图 1. 不同浓度标准品使用本试剂盒的检测效果图。实测数据会因检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。本试剂盒可进行 100 次或 500 次检测。

◆ 试剂盒包装清单

产品编号	产品名称	规格 1 (100 次)	规格 2 (500 次)
RM02882	TBA	25mg	125mg
RM02883	TBA 配制液	6.76mL	35mL
RM02884	TBA 稀释液	15mL	75mL
RM02885	抗氧化剂	300 μ L	1.5mL
RM02886	标准品 (1mM)	200 μ L	1mL
—	说明书	1 份	1 份

◆ 保存条件

-20°C 保存，一年有效。RM02882 TBA 和 RM02885 抗氧化剂需避光保存。RM02882 TBA、RM02883 TBA 配制液和 RM02884 TBA 稀释液可室温或 4°C 存放三个月。

◆ 使用方法

1. 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 Western 及 IP 等细胞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比例的 10%；对于细胞，每 100 万细胞使用 0.1mL 裂解液或匀浆液。匀浆或裂解后，10,000g-12,000g 离心 10min 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 0.2 μ m 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过程宜在冰浴或 4°C 进行。

- c. 对于组织或细胞样品，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。

- d. 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
缓冲试剂	Borate (50mM)	否
	HEPES (100mM)	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	Antipain ($\leq 100 \mu\text{g/mL}$)	否
	Chymostatin ($\leq 10 \mu\text{g/mL}$)	否
	Leupeptin ($\leq 10 \mu\text{g/mL}$)	否
	PMSF ($\leq 200 \mu\text{M}$)	否
	Trypsin ($\leq 10 \mu\text{g/mL}$)	否
	EDTA ($\leq 1\text{mM}$)	否
	EGTA ($\leq 1\text{mM}$)	否
其它试剂	Sucrose (250mM)	是
	Glycerol ($\leq 10\%$)	否

2. 试剂盒的准备工作:

a. TBA 储存液的配制

称取适量 TBA, 用 TBA 配制液配制浓度为 0.37% 的 TBA 储存液。例如 18.5mg TBA 用 5mL TBA 配制液配制, 或者 25mg TBA 用 6.76mL TBA 配制液配制, 最终浓度即为 0.37%。TBA 配制液需完全溶解后再使用, 可以加热到 70°C 以促进溶解。TBA 储存液较难溶解, 需加热到 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

检测次数	1 次	10 次	20 次	50 次
TBA 稀释液	150 μL	1500 μL	3000 μL	7500 μL
TBA 储存液	50 μL	500 μL	1000 μL	2500 μL
抗氧化剂	3 μL	30 μL	60 μL	150 μL

注意: MDA 检测工作液较难溶解, 可以 70°C 加热, 并剧烈涡旋以促进溶解。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、50 μM , 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 200 μ M 的标准品浓度。

3. 样品测定：

a. 在离心管或其它适当容器内加入 0.1mL 匀浆液、裂解液或 PBS 等适当溶液作为空白对照，加入 0.1mL 上述不同浓度标准品用于制作标准曲线，加入 0.1mL 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：

	空白对照	标准品	样品
匀浆液、裂解液或 PBS	0.1mL	—	—
标准品	—	0.1mL	—
待测样品	—	—	0.1mL
MDA 检测工作液	0.2mL	0.2mL	0.2mL

b. 混匀后，PCR 仪 100 $^{\circ}$ C 或沸水浴温育 15min。

c. 水浴冷却至室温，1000g 室温离心 10min。取 200 μ L 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 μ mol/mg 蛋白或 μ mol/mg 组织。

◆ 注意事项

1. 醛、较高浓度的可溶性糖(例如 250mM 蔗糖)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。
2. 本产品仅限用于科学研究。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。