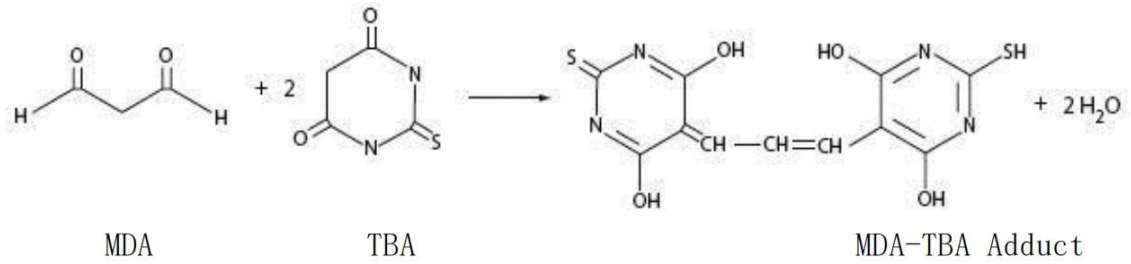
Lipid Peroxidation MDA Assay Kit {脂质氧化(MDA)检测试剂盒}

货号：RK05818

规格：100 T

◆ 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 1μM-200μM（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。

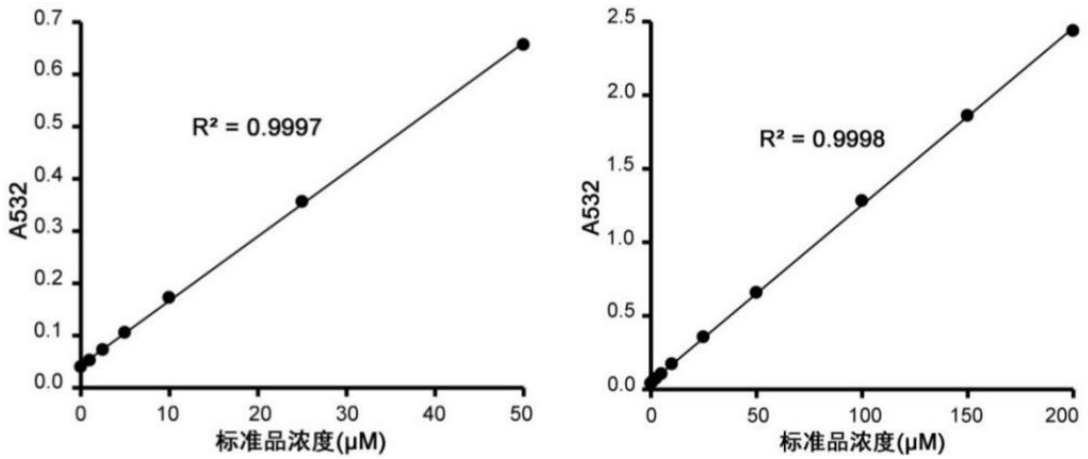


图 1. 不同浓度标准品使用本试剂盒的检测效果图。实测数据会因检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。本试剂盒可进行 100 次检测。

◆ **试剂盒包装清单**

产品编号	产品名称	规格 1（100 次）
RM02882	TBA	25mg
RM02883	TBA配制液	6.76mL
RM02884	TBA稀释液	15mL
RM02885	抗氧化剂	300μL
RM02886	标准品（1mM）	200μL
	说明书	1份

◆ **保存条件**

-20ºC 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℃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（不建议使用 RIPA 强裂解液）。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 10 min 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过程宜在冰浴或 4℃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（≤1%）	否
	Triton X-100（≤1%）	否
	Tween 20（≤1%）	否
抑制剂/螯合剂	Antipain（≤100μg/mL）	否
	Chymostatin（≤10μg/mL）	否
	Leupeptin（≤10μg/mL）	否
	PMSF（≤200μM）	否
	Trypsin（≤10μg/mL）	否
	EDTA（≤1mM）	否
	EGTA（≤1mM）	否
其它试剂	Sucrose（250mM）	是
	Glycerol（≤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 配制液配制成浓度为 0.37%的 TBA 储存液。例如 18.5 mg TBA 用 5mL TBA 配制液配制，或者 25 mg TBA 用 6.76 mL 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℃，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	150μL	1500μL	3000μL	7500μL
TBA储存液	50μL	500μL	1000μL	2500μL
抗氧化剂	3μL	30μL	60μL	150μL

注意: MDA 检测工作液较难溶解，可以 70℃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 μM 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 0.1 mL 匀浆液、裂解液或 PBS 等适当溶液作为空白对照，加入 0.1 mL 上述不同浓度标准品用于制作标准曲线，加入 0.1 mL 样品用于测定；随后加入 0.2 mL 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	0.1 mL	–	–
标准品	–	0.1 mL	–
待测样品	–	–	0.1 mL
MDA检测工作液	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL

b. 混匀后，PCR 仪 100℃或沸水浴温育 15 min。

c. 水浴冷却至室温，1000g 室温离心 10 min。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. 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.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，不得存放于普通住宅内。

3.为了您的安全和健康，请穿戴好个人防护装备和服装进行操作。