

丙二醛 (MDA) 检测试剂盒说明书

Cat#: 8013071

【产品名称】

丙二醛 (MDA) 检测试剂盒

【包装规格】

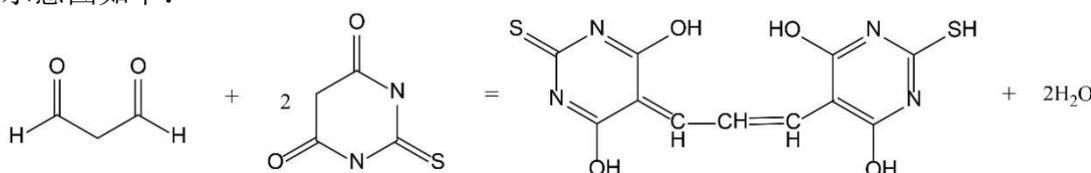
成品名称	成品货号	规格	组分货号	组分名称	组分规格	数量
丙二醛 (MDA) 检测试剂盒	8013071	100 T	8013071-1	TBA	50 mg /支	1
			8013071-2	Acetic Acid Solution	7.5 mL /瓶	1
			8013071-3	SDS Solution	12 mL /瓶	1
			8013071-4	MDA Standard (1mM)	500 μ L /支	1
			8013071-5	BHT Solution (100 \times)	500 μ L /支	1

【产品描述】

丙二醛 (MDA) 检测试剂盒是一种灵敏简单的检测脂质过氧化产物丙二醛的试剂盒。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, 通过检测 MDA 的水平可评价脂质氧化的水平, 因此 MDA 的测定被广泛用作脂质氧化的指标。

本试剂盒是一种基于 MDA 和硫代巴比妥酸 (Thiobarbituric acid, TBA) 在较高温度和酸性环境中反应生成红色 MDA-TBA 加和物, MDA-TBA 加和物在 535nm 波长具有最大吸收, 据此可以通过比色法进行检测。另外 MDA-TBA 受 535nm 波长激发光激发, 在 553nm 波长发出荧光, 因此, 可以通过荧光法检测 MDA 浓度。荧光法相对比色法灵敏度提高一个数量级。

反应示意图如下:



本试剂盒具有良好的检测线性, 通过比色法检测 MDA 的线性范围为 1.56-50 μ M, 灵敏度 \leq 1.56 μ M; 荧光法检测 MDA 的线性范围为 0.156-5 μ M, 灵敏度 \leq 0.156 μ M。

本试剂盒能够检测动物血浆、血清、细胞裂解上清和组织裂解上清中 MDA 含量。

【储运条件】

-25 $^{\circ}$ C ~ -15 $^{\circ}$ C 储存, 有效期 12 个月。TBA 配制成溶液后, 可 2 $^{\circ}$ C ~ 8 $^{\circ}$ C 避光储存, 尽快使用。SDS Solution 使用前, 请恢复至室温并彻底溶解后使用, 首次使用后 2 $^{\circ}$ C ~ 8 $^{\circ}$ C 储存即可。

蓝冰运输。

【需要而未提供的试剂及器材】

1. 纯水
2. 细胞培养用 pH7.4 磷酸盐缓冲液(PBS)和 RIPA 裂解液

3. 系列可调节量程移液器及吸头
4. 离心管、透明（比色法）或黑色（荧光法）96孔板
5. 酶标仪

【操作说明】

1. 样品的准备

1.1 细胞裂解上清的准备:将需要测定的细胞(2×10^6 - 2×10^7)收集到 1.5 mL 的离心管中,4 °C、300 g 离心 5 分钟,弃去上清;然后加入 PBS 清洗细胞一次,离心收集细胞,弃去上清。加入 200 μ L 中等强度 RIPA 裂解液(按照 1:100 比列提前加入 2 μ L BHT Solution 100 \times),冰浴裂解 30 分钟,4 °C、10000 g 离心 10 分钟,收集上清。

1.2 组织裂解上清的准备:将需要测定的组织(20-50 mg)收集到玻璃匀浆器或自动匀浆管中,然后加入 500 μ L 中等强度 RIPA 裂解液(提前加入 100 \times 的抗氧化剂 BHT Solution),冰浴匀浆 1 分钟,4 °C、10000 g 离心 10 分钟,收集上清。

1.3 血浆样品的准备:取新鲜抗凝血液,4 °C、1000 g 离心 10 分钟,上清为血浆。

1.4 血清样品的准备:取新鲜血液,室温凝固 30 分钟,4 °C、2000 g 离心 15 分钟,上清为血清。

注:各种样品,如果不立即进行测定,请冻存于-80 °C。

2. 试剂盒的准备

TBA Solution 的配制:将本试剂盒提供的 1 支 50 mg TBA 倒入 1 根 50 mL 离心管中,再加入 7.5 mL Acetic Acid Solution 震荡 2 分钟溶解 TBA,然后加入 17.5 mL 的纯水,彻底溶解 TBA,可以超声助溶,即为 TBA Solution,浓度为 2 mg/mL。

3. 标准品的准备

比色法标准品的配制:在 1.5 mL 离心管中,加入 950 μ L 纯水,再取 50 μ L 的 1 mM 浓度 MDA Standard 加入离心管中配制 50 μ M 浓度 MDA Standard;然后取另外 5 根 1.5 mL 离心管,分别加入 500 μ L 纯水,再吸取 500 μ L 的 50 μ M 浓度 MDA Standard 依次倍倍稀释为 25、12.5、6.25、3.12、1.56 μ M 浓度。

荧光法标准品的配制:在 1.5 mL 离心管中,加入 950 μ L 纯水,再取 50 μ L 的 1 mM 浓度 MDA Standard 加入离心管中配制 50 μ M 浓度 MDA Standard;然后取另一 1.5 mL 离心管,加入 900 μ L 纯水,再取 100 μ L 的 50 μ M 浓度 MDA Standard 加入离心管中配制 5 μ M 浓度 MDA Standard;另外取 5 根 1.5 mL 离心管,分别加入 500 μ L 纯水,再将 500 μ L 的 5 μ M 浓度 MDA 标准品依次倍倍稀释为 2.5、1.25、0.625、0.312、0.156 μ M 浓度。

4. 测定方法 Measurement:

1) 取 1.5 mL 离心管,设置空白对照管、标准品管和样品管,如下表所示,在空白对照管中加入 100 μ L 纯水或 RIPA 裂解液,在标准品管中加入 100 μ L 梯度浓度 MDA Standard (1.56-50 μ M 或 0.156-5 μ M),在样品管中加入 100 μ L 样品。

	空白对照管	标准品管	样品管
纯水或 RIPA 裂解液	100 μ L	—	—
MDA Standard	—	100 μ L	—
样品	—	—	100 μ L
SDS Solution	100 μ L	100 μ L	100 μ L
TBA Solution	200 μ L	200 μ L	200 μ L

2) 如上表所示,各管加入 100 μ L 的 SDS Solution。

3) 如上表所示,各管加入 200 μ L 的 TBA Solution。

4) 将离心管置于 95 °C 水浴或金属浴反应 30 min,然后冰浴冷却。

注意:若发现检测样本吸光度太低,可以将水浴时间 30 min 延长至 60 min,但相关的 MDA 的检

测都必须延长至 60 min，以免造成差异。

5) 将离心管 4 °C、10000 g 离心 10 分钟，各管取 200 μL 上清至 96 孔板中，比色法利用酶标仪测定 535nm 波长吸光度，荧光法测定 ex535nm-em533nm 的荧光值。

5. 数据处理

利用 MDA 标准品的浓度为横坐标，吸光度值或荧光值为纵坐标制作标准曲线，然后利用样品测定中的吸光度值或荧光值计算样品的 MDA 浓度。通过比色法和荧光法测定 MDA 标曲结果如下图所示：

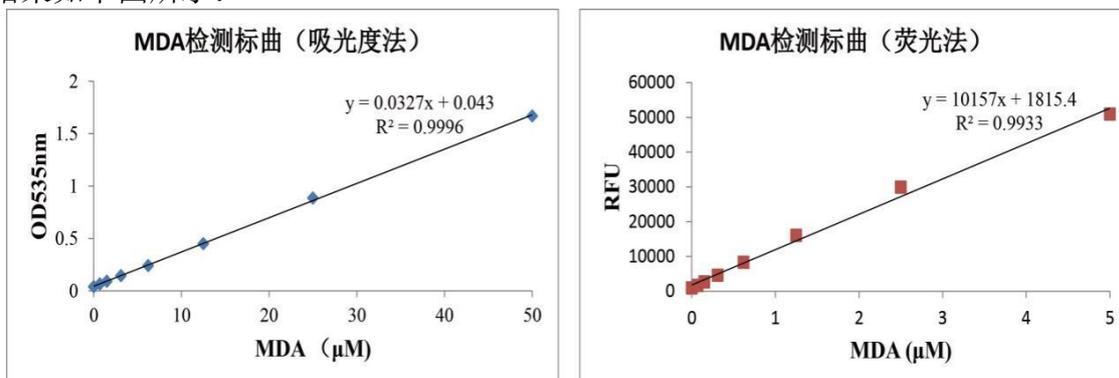


图 1 MDA 标准曲线

注：示例数据仅供参考，每次实验必须制备当次实验的标准曲线。

【注意事项】

1. 血红蛋白对测定有一定干扰，请尽量避免血浆和血清制备过程中的溶血。
2. TBA 配制成溶液后不够稳定，要在 2 °C ~ 8 °C 避光储存，一周内用完。
3. 初次使用试剂盒时，粉末试剂和小体积液体试剂请适当离心后使用。
4. 本产品仅限专业人员用于科学研究，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。

【产品标签符号说明】

产品标签符号	说明	产品标签符号	说明
REF	产品编号	LOT	批次代码
	生产日期		制造商
	有效期		温度极限
	查阅使用说明		避光保存

【说明书修改日期】

2025.09.09

【公司信息】

生产企业：北京行健雅生物技术有限公司(该产品由深圳市达科为生物工程有限公司监制)

网址：www.dakewe.com

电话：010-57794997

邮箱：xingjianya@dakewe.net

地址：北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地华佗路 50 号院 1 号楼 301