

改良型丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒

(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0709	改良型丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒	100T

产品内容

名称	规格	储存条件
MDA 检测液	20mL	-20℃, 避光; 避免反复冻融。
抗氧化剂	200μL	
MDA 标准品 (1mM)	500μL	

一、产品说明

翼飞雪改良型丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒可用于检测血清、血浆、尿液、动植物组织或细胞裂解液中的 MDA 含量, 本试剂盒的线性检测范围为 1-40μM, 可兼容常见的缓冲试剂、去垢剂、抑制剂、螯合剂等。

脂质过氧化一般是指活性氧对细胞脂质的氧化降解。不饱和脂质过氧化会影响细胞膜特性、信号转导途径、细胞凋亡以及食物和其他生物化合物的变质。脂质过氧化降解会形成活性醛, 如丙二醛 (MDA) 和 4-羟基壬烯醛 (4-HNE), 在这过程中自由基从脂质(通常是细胞膜)中夺取电子, 导致细胞损伤。因此丙二醛 (MDA) 和 4-羟基壬烯醛 (4-HNE) 通常被用作脂质过氧化的标志物, 并用于检测氧化损伤/氧化应激。

本试剂盒的检测原理为样品中的 MDA 与硫代巴比妥酸 (TBA) 反应生成 MDA-TBA 复合物(反应原理见下图), MDA-TBA 复合物可以通过比色法 (OD = 532 nm) 或荧光法 (Ex/Em = 532/553 nm) 进行检测定量。

二、样品准备

- 1、组织: 取组织样本 20-50mg, 冰上匀浆, 离心后取上清待测。
- 2、细胞: 自备 RIPA 裂解液, 提前加入抗氧化剂 (抗氧化剂终浓度为 0.5%), 收集细胞 (10⁶ 以上) 并使用 RIPA 裂解液裂解细胞, 通过 Bradford 进行蛋白定量, 便于后续换算。
- 3、培养细胞上清: 直接离心, 取上清待测。

三、含量测定

- 1、使用样本处理液稀释配制系列浓度的标准溶液:

组别	裂解液体积	标准品体积	标准溶液终浓度
A	307.2μL	1mM MDA 12.8μL	40μM
B	100μL	从 A 中取 100μL	20μM
C	100μL	从 B 中取 100μL	10μM
D	100μL	从 C 中取 100μL	5μM
E	100μL	从 D 中取 100μL	2.5μM
F	100μL	从 E 中取 100μL	1.25μM

G	100 μ L	从 F 中取 100 μ L	0.63 μ M
H	100 μ L	从 G 中取 100 μ L, 弃 100 μ L	0.31 μ M
I	100 μ L	0	0

2、检测:

1) 确保标准溶液和样品体积为 100 μ L。

2) 提前将 MDA 检测液加热至完全溶解, 并室温冷却至 30-40 $^{\circ}$ C, 30-40 $^{\circ}$ C 加热溶解抗氧化剂并加入 0.1% 至 MDA 检测液中。

注: MDA 检测液冷却温度不可过低, 不可冰浴冷却。

3) 向标准溶液管和样品管中加入 200 μ L 含有抗氧化剂的 MDA 检测液。

注: 加入检测液后, 反应体系可能会变浑浊, 可轻弹管壁使其混匀 (不可剧烈震荡), 95 $^{\circ}$ C 水浴锅中加热 30min。

4) 加热完毕后, 置于冰上冷却至 4 $^{\circ}$ C, 4 $^{\circ}$ C 13000rpm 离心 10min。

5) 取上清 200 μ L 至 96 孔板中, 测定 532nm 处吸光度值 (比色法), 或检测 Ex/Em = 532/553nm 荧光值 (荧光法)。

注: 可做 2-3 个复孔, 确保数据稳定性。

6) 绘制标准曲线: 以 MDA 标准品浓度 (μ M) 为横坐标, A532 为纵坐标绘制标准曲线。

7) 根据标准曲线计算出样品中 MDA 浓度。也可以根据 Bradford 蛋白含量单位换算样品中 MDA 含量 (μ mol/mg)。

四、注意事项

1、醛、较高浓度的可溶性糖 (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、MDA 检测液低温会析出沉淀, 80 $^{\circ}$ C 水浴加热溶解即可。

3、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。