

丙二醛 MDA 检测试剂盒

用于血清，血浆，细胞上清及其他生物体液中

MDA 的检测

货号：A3010S0406

96 tests

仅供科研使用，勿用于药物、临床检测

检测原理：

过氧化脂质降解产物中的丙二醛 (MDA) 可与硫代巴比妥酸 (TBA) 缩合，形成红色产物，在 532nm 处有最大吸收峰。因底物为硫代巴比妥酸 (Thiobarbituric Acid TBA) 所以此法称 TBA 法。

试剂盒组份 (2-8°C 保存)

1. 试剂一 2mL×1 瓶；
注：试剂一天冷时会凝固，每次测试前可 37°C 加热以加速溶解，直至透明方可应用。
2. 试剂二 34mL×1 瓶；
3. 试剂三 18mL×1 瓶；
4. 标准品：10nmol/mL 四乙氧基丙烷 1mL×1 管；

未提供的试剂、仪器和耗材：

1. 单道或多道 (8 道或 12 道) 移液器及移液器枪头：2-20μL 和 20-200μL；
2. 多道 (8 道或 12 道) 移液器试剂存放槽；
3. 培养箱；
4. 96 孔板；
5. 酶标仪 (含 535 nm 波长)；(荧光法需要荧光酶标仪)
6. 95°C 水浴锅；
7. 电炉 (配试剂加热用)；
8. 台式低速离心机；
9. 双蒸水；
10. 冰醋酸 (分析纯，乙酸浓度≥99.5%)；
11. 涡旋混匀器；
12. 离心管；
13. 蛋白测定试剂；

比色法 (适用于组织匀浆液、血清等含量高样本)

操作步骤：

| | 空白管 | 标准管 | 测定管 | 对照管 |
|---------------|-----|-----|-----|-----|
| 10nmol/mL 标准品 | | 20 | | |
| 双蒸水 (μL) | 20 | | | |
| 测试样品 (μL) | | | 20 | 20 |
| 试剂一 (μL) | 20 | 20 | 20 | 20 |

混匀 (摇动几下离心管架)

| | | | | |
|-------------|-----|-----|-----|-----|
| 试剂二 (mL) | 300 | 300 | 300 | 300 |
| 试剂三 (mL) | 100 | 100 | 100 | |
| 50%冰醋酸 (mL) | | | | 100 |

离心管盖上盖，用针在盖上扎一小孔，涡旋混匀器混匀，95°C 水浴 (或用锅开盖煮沸) 40 分钟，取出后流水冷却，然后 3500~4000 转/分，离心 10 分钟，(3000 转/分以下离心时间需延长，目的使沉淀完全。另外如有大量脂质存在，可加入 0.1mL 氯仿，涡旋抽提约 60 秒后再离心)。取上清 150-200μL 转移到酶标板中，535nm 处读数。

注意事项：

1. 一般情况下，标准管、空白管每批只需做 1~2 只，若样本没有特殊颜色、浊度等现象，则对照管可以不测，用空白管来代替对照管。
2. 吸取上清比色时不要吸到底部沉淀。

计算公式：**1. 血清(浆)中 MDA 含量计算公式：**

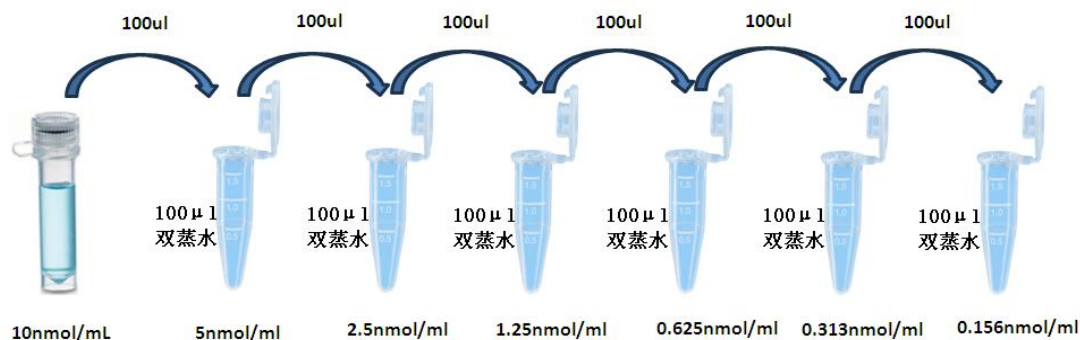
血清(浆)中 MDA 含量 (nmol/mL) = (样品测定 OD 值 - 空白测定 OD 值) / (标准测定 OD 值 - 空白测定 OD 值) × 标准品浓度 (10nmol/mL) × 稀释倍数

2. 组织匀浆液中 MDA 含量计算公式：

组织匀浆液中 MDA 含量 (nmol/mgprot) = (样品测定 OD 值 - 空白测定 OD 值) / (标准测定 OD 值 - 空白测定 OD 值) × 标准品浓度 (10nmol/mL) × 稀释倍数 ÷ 组织匀浆液蛋白浓度 (mgprot/mL) 注：nmol/mgprot 为纳摩尔/毫克蛋白

荧光法 (适用于细胞等含量低样本)**操作步骤：**

标准品配制：准备六支 EP 管，分别加入 100μL 双蒸水，吸取 10nmol/mL 的标准品溶液 100μL 加入第一管中，充分混匀，从第一管中取 200μL 加到第二管中，充分混匀，如此反复对半稀释至浓度 0.156nmol/mL 的标准品溶液；



| | 空白管 | 标准管 | 测定管 | 对照管 |
|------------------|-----|-----|-----|-----|
| 配置好的 7 个标准品 (μL) | | 20 | | |
| 双蒸水 (μL) | 20 | | | |
| 测试样品 (μL) | | | 20 | 20 |
| 试剂一 (μL) | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 混匀 (摇动几下离心管架) | | | | |
| 试剂二 (μL) | 300 | 300 | 300 | 300 |
| 试剂三 (μL) | 100 | 100 | 100 | |
| 50%冰醋酸 (μL) | | | | 100 |

离心管盖上盖，用针在盖上扎一小孔，涡旋混匀器混匀，95℃水浴 (或用锅开盖煮沸) 40 分钟，取出后流水冷却，然后 3500~4000 转/分，离心 10 分钟，(3000 转/分以下离心时间需延长，目的使沉淀完全。另外如有大量脂质存在，可加入 0.1mL 氯仿，涡旋抽提约 60 秒后再离心)。取上清 100μL 转移到荧光酶标板中，ex535nm-em553nm 读数。

注意事项：

- 一般情况下，标准管、空白管每批只需做 1~2 只，若样本没有特殊颜色、浊度等现象，则对照管可以不测，用空白管来代替对照管。
- 吸取上清比色时不要吸到底部沉淀

计算公式：**细胞中 MDA 含量计算公式：**

- 所有荧光读数都应减除空白值后再计算；
- 以标准品 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.313, 0.156, 0 nmol/mL 为横坐标，ex535nm-em553nm 的荧光读数为纵坐标，画出标准曲线。
- 计算样本孔应该读数减去对照孔读数的差值，根据差值在该曲线图上查出相对应 MDA 含量。(若样本没有特殊颜色、浊度等现象，则对照管可以不测，用空白管来代替对照管)