

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

丙二醛测定试剂盒 Malondialdehyde (MDA) Assay Kit

产品货号: BC00008

产品规格: 100T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

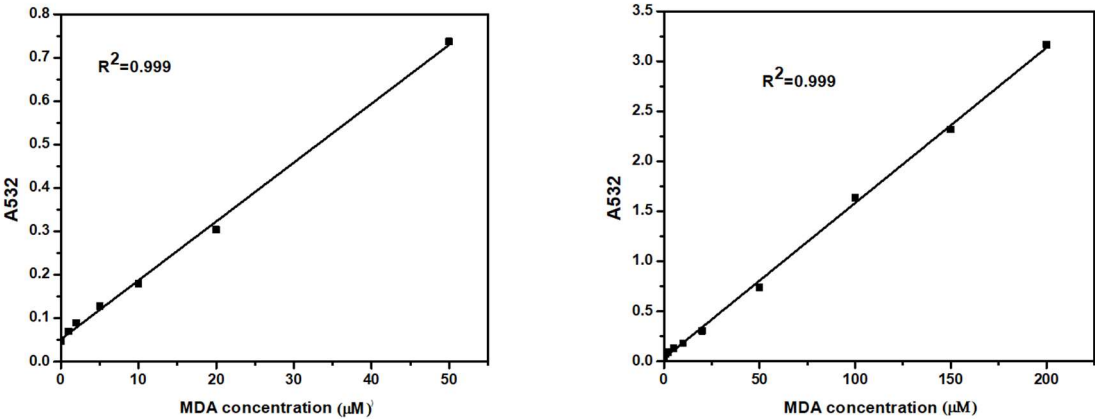
产品中文名称	丙二醛测定试剂盒
产品英文名称	Malondialdehyde (MDA) Assay Kit
检测方法	Colorimetric
样品类型	血清、血浆、尿液、组织、细胞
检测类型	Quantitative
检测仪器及波长	酶标仪（530-540 nm，最佳检测波长 532nm。双波长测定参考波长 450nm）
检测范围	1-200μM
灵敏度	0.5342μM

产品简介

脂质氧化是指细胞内或体内的脂质分子遭受氧化损伤的过程，这个过程会导致细胞和组织功能受损，还会引发一系列的疾病。在医学和生命科学研究中，测量脂质氧化程度的方法之一是检测脂质氧化产物丙二醛（MDA）水平。

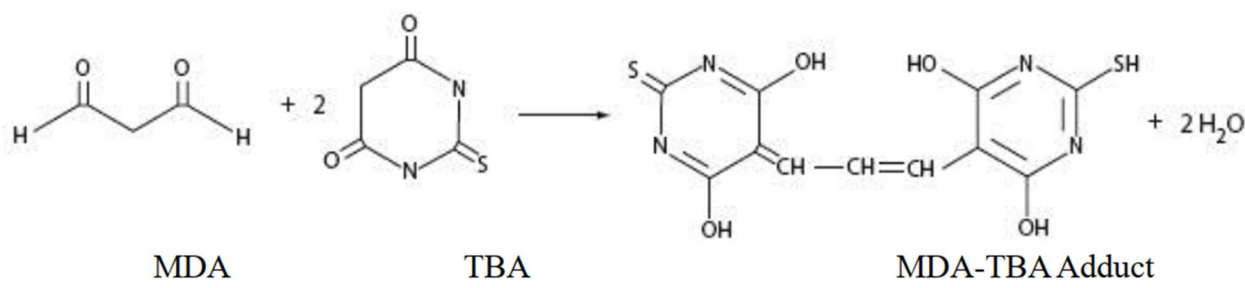
产品特点

★ 本试剂盒可以测定 1-200μM 范围内的 MDA，下图展示了 MDA 标准品不同浓度检测的 A532 读数。



检测原理

本试剂盒利用硫代巴比妥酸（thiobarbituric acid, TBA）与 MDA 反应产生红色产物（MDA-TBA 加合物）。MDA-TBA 加合物在 532nm 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 532nm 被激发产生最大发射波长 553nm，据此也可以进行荧光检测。



产品组分

编号	产品名称	包装规格（100T）	保存方式
试剂一	TBA	25mg	-20℃，需避光保存，开瓶后可室温或 2-8 度存放三个月。
试剂二	TBA 配置液	6.76ml	-20℃，开瓶后可室温或 2-8 度存放三个月。
试剂三	TBA 稀释液	15ml	-20℃，开瓶后可室温或 2-8 度存放三个月。
试剂四	抗氧化剂	300μl	-20℃，需避光保存。
试剂五	标准品（1mM）	200μl	-20℃
耗材一	96 孔酶标板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 12 个月。

实验前准备

• 样品处理

1. 血浆、血清或尿液样品制备后可以直接用于 MDA 测定。
2. 组织或细胞可以使用 PBS 或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的比例为 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，10000g-12000g 离心 10 分钟取上清用于后续测定。若离心不能获得澄清的上清溶液，或加入 MDA 检测工作液出现浑浊的，需使用 0.2 微米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步骤宜在冰浴或 4°C 进行操作。
3. 对于组织或细胞样品，样品准备完毕后可以用 EnkiLife 生产的蛋白浓度测定试剂盒(BCA 法)(BC00006)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。

• 试剂盒的准备工作

1. 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 18.5mg 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 Vortex 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。
2. 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°C 加热，并剧烈 Vortex 以促进溶解。也可

以通过超声处理以促进溶解。用于检测标准品和检测样品的 MDA 检测工作液需要同一批制备或使用同样的制备方法。配制好的 MDA 检测工作液必须当天使用。

3. 标准品的稀释：取适量标准品用蒸馏水可使用对半稀释法配置稀释至 50、25、12.5、6.25、3.125、0 μ M，用于后续制作标准曲线。例如，先配置 220 μ l 浓度 50 μ M 的标准品，取 110 μ l 并加入 110 μ l 的稀释液即可配置 220 μ l 浓度 25 μ M 的标准品，依此类推。如果样品中 MDA 的浓度很高，可以增加 100 和 200 μ M 的标准品浓度。

操作流程

1. 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。
2. 混匀后，100℃ 或沸水浴加热 15 分钟。加热时务必注意避免液体暴沸溅出。如果使用加热块(Heat block)进行加热注意用重物压紧离心管盖；如果使用沸水浴，则需使用可把盖子锁死的离心管或螺旋盖离心管，或用 Parafilm 封住离心管口，用针头刺一小孔。最方便和准确的加热方法是使用带有热盖并可以加热 0.5ml PCR 管的 PCR 仪。
3. 水浴冷却至室温，1000g 室温离心 10 分钟。取 200 微升上清加入到 96 孔板中，随后用酶标仪在 532nm 测定吸光度，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。

操作表如下：

	空白对照	标准品	样品
匀浆液、裂解液或 PBS	0.1ml	—	—
不同浓度的标准品	—	0.1ml	—
待测样品	—	—	0.1ml
MDA 检测工作液	0.2ml	0.2ml	0.2ml
混匀后，100℃ 或沸水浴加热 15 分钟。水浴冷却至室温，1000g 室温离心 10 分钟。 取 200 微升上清加入到 96 孔板中，酶标仪在 532nm 测定各孔吸光度。			

结果计算

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 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 蛋白或 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 组织。

注意事项

1. 没有检测到 MDA。可能样品中 MDA 浓度过低,在检测限之下。在检测组织或细胞的 MDA 时,请注意使用更多的组织或细胞。并注意尽量不要稀释样品。
2. 因 MDA 检测工作液不稳定,建议每次做标准曲线,或处理标准品时和处理样品时所用的条件一致。
3. 本产品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。