

丙二醛 (MDA) 检测试剂盒

血清、细胞培养上清以及组织、细胞样本

说明书修订日期: 2021.11.16

Cat number: KGT003-KGT004

Store at -20°C for 6 months

For Research Use Only

一、MDA 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。

二、试剂盒组分

组 份	Cat: KGT003 50 assays	Cat: KGT004 100 assays	储存条件
试剂 A	50 mL	100 mL	2-8°C
试剂 B	10 mL	20 mL	RT
试剂 C	75 mL	150 mL	2-8°C
试剂 D	75 mL	150 mL	-20°C
试剂 E (标准品)	1.5 mL	3 mL	2-8°C, 避光

注意:

1. 标准品浓度: 1nmol/ul ;

2. 试剂D中含有难溶物成分, 如出现自-20 恢复室温后, 有黄色难溶沉淀的情况, 属于正常现象, 可置于37-50 水浴锅中加热搅拌一段时间, 如有部分不溶, 可取上清进行后续实验。

三、检测样本的预处理

1. 组织

新鲜组织样本 100mg, 以 1ml 预冷的试剂 A 匀浆成 10% 的匀浆液, 12000g 离心 5min, 取上清待检测。

2. 细胞

消化细胞并离心收集, 计数 10^6 个细胞每管, 加入 1ml 预冷的的细胞裂解液 (IP 裂解液客户自备或购买凯基产品 KGP701), 每隔 5min 剧烈震荡 30s, 冰上裂解 20min, 12000g 离心 5min, 取上清待检测。

四、操作方法

1. 标准曲线的绘制

以组织样本为例，参照组织样本检测方法，取 5 个离心管，按下表加入下列试剂：

管号	1	2	3	4	5
标准品 (ul)	0	2.5	5	10	20
双蒸水 (ul)	20	17.5	15	10	0
试剂 C (ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
试剂 D (ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
MDA 含量 (nmol)	0	2.5	5	10	20

混匀后，每管加1ml 双蒸水，快速混匀，置于沸水浴中煮沸50min（煮沸前在盖子上扎一个小孔，防止管子爆开），快速放入冰水中冷却，3000r/min、4℃离心15min，取上清于532nm 读数。

2. 样本检测

（1）血清以及细胞培养上清：

取0.25ml 样品加入到1.5ml试剂C溶液中，混匀后，加入0.3ml试剂D，混匀后于沸水浴中煮沸40min，快速放入冰水中冷却，3000r/min、4℃离心15min，取上清于532nm 读数。

（2）组织匀浆液

取0.2ml 匀浆上清液，加入0.2ml 试剂B，混匀后加入1.5ml 试剂C和1.5ml 试剂D，混匀，每管加入1ml 双蒸水，快速混匀。沸水浴中煮沸50min，快速放入冰水中冷却，3000r/min、4℃离心15min，取上清于532nm 读数。

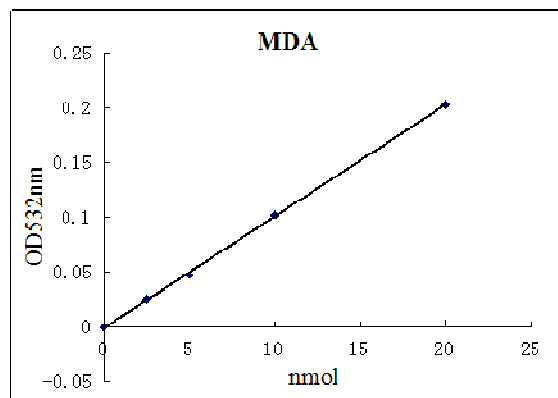
（3）培养细胞样本

取0.2ml细胞裂解液，加入1.5ml 试剂C 和1.5ml 试剂D，混匀，每管加入1ml 双蒸水，快速混匀。沸水浴中煮沸50min，快速放入冰水中冷却，3000r/min、4℃离心15min，取上清于532nm 读数。

3. 结果判断

（1）以标准品含量作为横坐标，OD值作为纵坐标，以平滑线连接各标准品的坐标点。通过标本的OD值可在标准曲线上查出其浓度。

（2）若标本OD值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数。



注意：本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线计算标本含量。