

产品组成:

规格	50T	100T
试剂A	10 ml	20 ml
试剂B	6 ml	12 ml
试剂C	一管	一管
标准品(10nmol/ml)	5 ml	5 ml

储存条件: 2-8℃避光保存。

有效期: 一年。

注意事项:

- 本试剂盒仅供科学研究使用,不可用于诊断或治疗。
- 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心,将盖和管内壁上的液体离心至管底,避免开盖时试剂损失。
- 禁止与其他品牌的试剂混用,否则会影响使用效果。
- 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
- 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿,可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。
- 避免皮肤或粘膜与试剂接触。

产品简介:

SAB MDA试剂盒是一种改进型的微量、快速、简便、准确、无毒害的测试方法。通过测试可反映出细胞、细胞培养上清、血清、血浆、乳汁等细胞外液、红细胞、白细胞以及各种动植物的细胞水平的脂质过氧化物的量。

机体通过酶系统与非酶系统产生氧自由基,后者能攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA),引发脂质过氧化作用,并因此形成脂质过氧化物。如:醛基(丙二醛 MDA)、酮基、羟基、羰基、氢过氧基或内过氧基,以及新的氧自由基等。脂质过氧化作用不仅把活性氧转化成活性化学剂,即非自由基性的脂类分解产物,而且通过链式或链式支链反应,放大活性氧的作用。因此,初始的一个活性氧能导致很多脂类分解产物的形成,这些分解产物中,一些是无害的,另一些则能引起细胞代谢及功能障碍,甚至死亡。氧自由基不但通过生物膜中多不饱和脂肪酸 (PUFA) 的过氧化引起细胞损伤,而且还能通过脂氢过氧化物的分解产物引起细胞损伤。因而测试 MDA 的量常常可反映机体内脂质过氧化的程度,间接地反映出细胞损伤的程度。MDA 的测定常常与 SOD 的测定相互配合, SOD 活力的高低间接反应了机体清除氧自由基的能力,而 MDA 的高低又间接反应了机体细胞受自由基攻击的严重程度。

试剂盒特点:

- 本试剂盒中试剂均无刺激性气味,对操作人员无任何毒害。
- 快速准确,操作简便,每小时可测 100 例以上样本。
- 灵敏度高,血清或血浆样品只需 0.1 ml,或者更少。
- 再现性好,变异系数 CV=1.5%,同一份标本数次测试结果相关极微。
- 呈色稳定,呈色后一天内测吸光度不变。
- 血清样品放置 40℃, 3~5 天内测试结果不变。—70℃ 以下可保存个月至半年。
- 测试面广,可测血清、血浆、各种组织匀浆,培养细胞等。
- 不需昂贵与特殊仪器,只需恒温水浴箱或铝锅、铝盆开盖煮沸,及 721、722、751、752 分光光度计任一型号均可。稳定,不受气温等外界因素的影响。

试剂盒以外自备试剂和仪器

- 无水乙醇、冰醋酸
- 纯水
- 移液器及吸头
- 离心机
- 分光光度计
- 37℃ 恒温水浴锅

使用方法:

使用注意事项:

- 必须使用干净的试管。
- 配制试剂时要充分混匀，加样或加试剂时要垂直加入试剂中，避免加到管壁。
- 水浴时间和温度必须固定。
- 血浆、血清或尿液样品制备后可以直接用于MDA 测定。
- 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，1600g 离心 10 分钟取上清用于后续测定。匀浆或裂解等样品制备步骤宜在冰浴或 4℃进行操作。
- 对于组织或细胞样品，样品准备完毕后可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的MDA 含量。
- 若待测样品吸光度太低，可将 95℃水浴时间延长为 80 分钟。
- 100ul 样品时标准管吸光度减去空白管吸光度大约 0.065-0.070，200ul 样品时标准管吸光度减去空白管吸光度大约 0.13-0.14。
- 95℃水浴最好用带盖试管，如无带盖试管，可用保鲜膜扎口，水浴时用针扎一小孔。
- 试剂A 温度低时会凝固，使用前水浴加热溶解至透明。

样品测定:

1、试剂配制:

试剂 B: 用前将 6ml 试剂 B 加入 170ml 双蒸水, 12 ml 试剂 B 加入 340ml 双蒸水混匀, 4℃保存。

试剂 C: 50T 规格产品将试剂 C 溶于 30ml 热双蒸水中(95℃左右), (100T 规格产品将试剂 C 溶于 60ml 热双蒸水中(95℃左右)), 混匀, 加入 30ml (60ml) 冰醋酸, 混匀后室温避光保存。

2、在带盖试管中按下表配制检测反应体系:

	空白管	标准管	测定管	对照管
10nmol/ml 标准品 (ml)		x		
无水乙醇 (ml)	x			
测试样品 (ml)			x	x
试剂A (ml)	x	x	x	x
混匀后继续按下表添加				
配制后的试剂B (ml)	3	3	3	3
配制后的试剂C (ml)	1	1	1	
50%冰醋酸 (ml)				1

注: 待测试样品x ml, 其余试剂均加入与待测样品相同的量。一般加入 100-200ul。

- 3、充分混匀后用保鲜膜扎紧试管口, 刺一小孔, 95℃水浴 40 分钟。
- 4、用流水冷却。
- 5、3500-4000rpm 离心 10 分钟。
- 6、532nm 处, 1cm 光径, 用双蒸水调零, 测吸光值。若吸光度较低, 将水浴时间延长至 80 分钟。

结果处理:

血清中 MDA 含量 (nmol/ml) = (测定管吸光度-对照管吸光度) ÷ (标准管吸光度-空白管吸光度) × 10nmol/ml × 样品测试前稀释倍数

组织细胞中 MDA 含量 (nmol/mg) = (测定管吸光度-对照管吸光度) ÷ (标准管吸光度-空白管吸光度) × 10nmol/ml ÷ 样品蛋白浓度 (mg/ml)

举例: 取未稀释血清 0.1ml, 测定管 OD 值 0.037, 对照管 0.019, 标准管 0.078, 空白管 0.007

血清 MDA 含量 (nmol/ml) = (0.037-0.019) ÷ (0.078-0.007) × 10nmol/ml=2.535 nmol/ml

参考取样量:

血清(浆)取 0.1~0.2 ml。

低密度脂蛋白悬液取 0.1~0.2 ml。细胞悬液细胞上清 0.1~0.2 ml。

肝组织、心肌、肌肉组织、螺旋藻等, 取 5%或 10%匀浆 0.1~0.2 ml 较好。