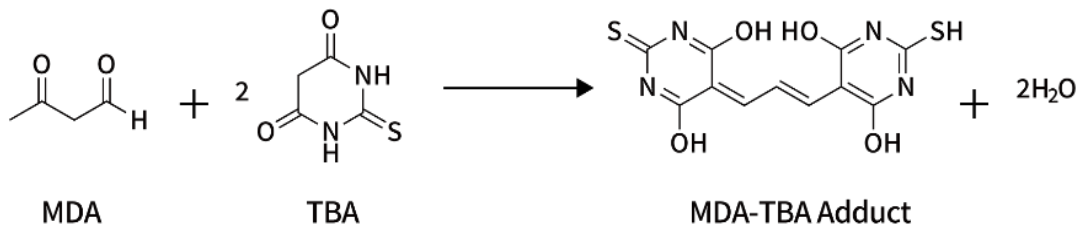


OxiTec™ TBARS Assay Kit

(Colorimetric)

BO-TBR-200, 200 assays

제품 원리



BIOMAX 사의 OxiTec™ TBARS Assay Kit (Colorimetric)에서의 MDA는 Tiobarbituric Acid (TBA)와 반응하여 MDA-TBA Adduct를 형성하며 이를 흡광도 532 nm에서 측정합니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	200 Assays	Storage
Acid Reagent	20 ml x 2 Bottles	4°C
Indicator (Lyophilized)	2 Bottles	
MDA Standard (10 mM)	100 µl	

* 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 4°C 보관 시 6개월간 안정적입니다.

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ 96-well Microplate (Clear, Flat bottom)
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ 8 or 12 Channel micropipette
- ▶ Microtube
- ▶ 15 ml conical tube
- ▶ Colorimetric microplate reader (532 nm Filter)
- ▶ Sonicator / Vortexer
- ▶ Water bath (~100°C)
- ▶ Micro centrifuge (4°C)

실험 전 준비 사항 및 보관 방법

- Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.

Acid Reagent

상온에 1 h 이상 두지 않습니다.

Indicator solution

Indicator 1 Bottle에 Acid Reagent 20 ml넣어 Vortexing 후 Water bath (~100°C)로 중탕하여 녹여줍니다. 대체로 잘 녹지 않으며, 중탕 중간중간 Vortexing을 해주며 중탕하시는 것을 권장합니다. 4°C에서 7일 동안 보관하면서 사용 가능하며 침전물이 생겼을 경우 위와 같은 방법으로 녹인 후 사용합니다.

MDA Standard

Methanol 1 ml을 넣고 Inverting 합니다. (Vortexing 하지 않습니다.) 실험하기 직전에 희석하여 사용하고 희석된 Standard solution은 24 h 이내에 사용합니다.

Standard

실험하기 직전에 희석합니다.(Standard solution) 희석된 Standard solution은 24 h 이내에 사용합니다.

Sample pre-treatment

- * 미지의 Sample 또는 처음 측정하는 Sample의 경우 측정값이 Standard curve 내에 위치하도록 예비실험 진행한 후 사용을 권장합니다.
- * Sample의 측정 값이 높은 Background 값을 가지면 측정에 사용한 동일 양의 Sample을 Background control로 준비합니다.
- * 모든 Sample의 과산화 지질들이 실험 과정에 걸쳐 안정적으로 유지될 수 있도록 Sample의 온도를 낮게 유지하십시오.
- * Sample을 재냉동하지 마십시오. Photo-oxidation을 피하기 위해 빛을 차단한 상태로 보관합니다.

Urine

바로 사용할 수 있지만 불용성의 Particle을 제거하기 위해 Centrifuge한 후 상층액만 분석합니다. 채취 후 가능한 빠른 시간 내에 분석하기를 추천하며 24 h 이내에는 신뢰 있는 데이터를 얻을 수 있으나 다른 날 분석을 진행 한다면 -80 °C에 보관합니다.

Plasma or Serum

희석하지 않고 바로 분석합니다. Deproteinization 처리 후 분석하고자 할 때는 다음 과정을 수행하거나 10 KD Spin column을 사용합니다.

- ① 포화 Ammonium sulfate 100 μ l를 Plasma or Serum sample 0.5 ml에 첨가합니다.
- ② TCA 35 mg을 각 Sample에 첨가한 후 Vortexing 합니다.
- ③ 뿌옇게 침전물 상태가 되면 Centrifuge를 하고 상층액만 분석합니다.

측정시료 2~200 μ l를 Microtube에 분주, 최종 Volume은 D.W.로 200 μ l가 되도록 조정합니다.

Standard preparation

Colorimetric method

10 mM Standard 20 μ l 와 D.W. 9.98 ml 를 혼합하여 20 μ M Standard을 준비합니다. Microtube에 0, 5, 10, 25, 50, 100, 150, 200 μ l를 분주하고 D.W.로 최종 Volume을 200 μ l로 조정하면 각 Microtube에 0, 0.5, 1.0, 2.5, 5, 10, 15, 20 μ M의 Standard solution이 만들어집니다.

Standards	Vol. of (20 μ M)STD (μ l)	D.W. (μ l) *	Final Vol. (μ l/tube)	Final STD Amount in tube (μ M)
1	0	200	200	0
2	5	195	200	0.5
3	10	190	200	1.0
4	25	175	200	2.5
5	50	150	200	5.0
6	100	100	200	10.0
7	150	50	200	15.0
8	200	0	200	20.0

실험 과정

- ① 준비된 Sample, Standard solution microtube에 다음과 같이 Indicator solution을 첨가합니다.
Background 또한 다음과 같이 준비합니다.

Reaction mix

▶ Free MDA

- Standard : Standard 200 μ l + Indicator 200 μ l
- Sample : Sample 200 μ l + Indicator 200 μ l
- Background : Sample 200 μ l + Acid Reagent 200 μ l (Blank는 생략하지 않습니다.)

- ② 상온에서 45 min 동안 Incubation 후 96-well Microplate에 150 μ l씩 분주하여 Microplate reader로 흡광도 532 nm에서 측정합니다.

▶ Total MDA

- Standard : Standard 200 μ l + Indicator 200 μ l
- Sample : Sample 200 μ l + Indicator 200 μ l
- Background : Sample 200 μ l + Acid Reagent 200 μ l (Blank는 생략하지 않습니다.)

- ③ 65 °C에서 45 min 동안 Incubation 후 96-well Microplate에 150 μ l씩 분주하여 Microplate reader로 흡광도 532 nm에서 측정합니다.

결과 분석

- MDA-TBA Adduct molecular weight : 313.52 g/mol

- 각 Standard well과 Sample well의 Duplicate 또는 Triplicate 측정값의 평균값을 구합니다.

- 모든 측정값에서 Blank 값을 뺍니다.

* *Sample background*가 높은 경우에는 *Sample background control*을 설정하여 *Sample*의 측정값에서 *Background control* 측정값의 차를 사용합니다.

- Standard curve에 시료의 흡광도 값을 대입하여 구한 MDA의 양으로 다음 식을 이용하여 시료 내 MDA의 농도를 구합니다.

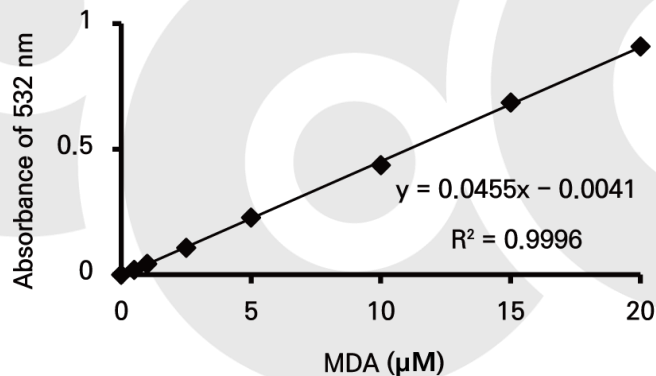
- Plasma or Serum sample의 경우, 위의 방법대로 Deproteinization 과정을 수행한 경우는 희석배수 1.2를 곱해줍니다.

$$C (\mu M) = B \times D$$

C : Sample 의 MDA 농도

B : 측정 Well의 MDA 농도 (μM)

D : Sample 희석 배율



MDA Standard Curve

Related products

- BO-TAC-200	OxiTec™ Total Antioxidant Capacity Assay Kit (Colorimetric)
- BO-SOD-250/500	OxiTec™ SOD Assay Kit (Colorimetric)
- BO-GLU-200	OxiTec™ Glutathione(GSH/GSSG/Total) Assay Kit (Colorimetric)
- BO-CAT-400	OxiTec™ Catalase Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)
- BO-PER-500	OxiTec™ Hydrogen Peroxide/peroxidase Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)
- BO-DPH-200/500	OxiTec™ DPPH Antioxidant Assay Kit (Colorimetric)

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.



Homepage : www.biomax.com

Shopping mall : www.biomaxmall.com

E-mail : info@scgbiomax.com

Tel : 02-3296-3158 / Fax : 02-973-2858

(주) 바이오맥스 : 경기 구리시 갈매순환로166번길 46, 금강펜테리움 IX타워 CORE-C, 7층

Note