

丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (分光法)

货号: PMK1040BKS

保存: 4°C 避光保存 12 个月

规格: 24 管/24S 48 管/48S

适用样本: 血清 (浆)、尿液、动植物组织、细胞、细菌

产品简介

氧自由基作用于脂质的不饱和脂肪酸, 生成过氧化脂质; 后者逐渐分解为一系列复杂的化合物, 其中包括丙二醛 (MDA)。通过检测 MDA 的水平即可检测脂质过氧化的水平。脂质过氧化可能导致许多疾病的发生, 包括动脉粥样硬化、糖尿病和阿尔茨海默症。本试剂盒为检测各种样品中的丙二醛提供了一种方便的工具。丙二醛 (MDA) 在酸性和高温条件下, 可以与硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA) 缩合, 生成棕红色的三甲川 (3, 5, 5-三甲基恶唑-2, 4-二酮), 其最大吸收波长在 532nm, 进行比色后可估测样本中 MDA 的含量。同时测定 600nm 下的吸光度, 主要是消除蔗糖的干扰, 利用 532nm 与 600nm 下的吸光度的差值, 计算 MDA 的含量。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	24 管	48 管	
提取液	30mL	60mL	4°C 保存
反应液	50mL	100mL	4°C 保存

自备耗材

可见分光光度计 (能测 532nm 和 600nm 处的吸光度) 及水浴锅

比色皿、可调节式移液枪及枪头

离心机

去离子水

匀浆器 (如果是组织样本)

10kDa MW 超滤管 (可选)

试剂准备

提取液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 保存于 4°C。

反应液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 保存于 4°C。如果有沉淀形成, 70°C 水浴至沉淀溶解。

样本制备

动植物组织: 称取 0.1g, 加入 1mL 预冷的提取液, 将样本冰上进行匀浆。在 13,000g 转速下 4°C 离心 10min, 取上清液做进一步分析。

细胞和细菌: 收集 5×10^6 个细胞或细菌, 用冷 PBS 清洗细胞或细菌后, 离心后弃上清, 加入 1mL 预冷的提取液, 冰浴超声波破碎细胞 5min (功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 重复 30 次), 然后 13,000g, 4°C 离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

血清、血浆、尿液 (和其它生物学液体): 可直接用来检测, 如果有必要, 建议将样本稀释成不同的浓度后, 再进行检测。

注意: 建议使用新鲜样本。如果不立即使用, 可将样品在 -80°C 下保存一个月。如需测定蛋白浓度, 推荐使用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上, 去离子水调零。

产品说明书

2. 样本测定：吸取 1.8mL 反应液于 5mL 离心管中，再加入 0.6mL 样本，混匀。95℃ 水浴中保温 30min（盖紧，防止水分散失，使用普通 EP 管可用封口膜缠口后，用针头在盖子上扎一个小孔防止爆盖。也可使用带有螺旋口的 EP 管，也需缠膜），置于冰浴中冷却，10000g，25℃，离心 10min。吸取约 2mL 上清液于比色皿中，测定 532nm 和 600nm 处的吸光度，计算 $\Delta A = A_{532} - A_{600}$ 。（该反应体系是按照常规的容量 3mL 左右的比色皿设计的，如果比色皿最适合的加样体积不是 2mL 左右，可以根据实际需要的体积按比例调整）

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果 ΔA 大于 1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数；如果 ΔA 小于 0.001，可增加样本量进行检测。

如果测定结果异常，且 95℃ 水浴后离心取上清时沉淀中有红色物质出现，表明三甲川产物与大分子物质形成了复合物，可通过超滤除去样本中的大分子物质：取样本上清液，通过 10kDa MW 超滤管过滤（12000g，4℃ 离心 10 min），取滤液，以去除所有蛋白质等大分子物质，置冰上待测。

结果计算

1. 按照蛋白浓度计算

MDA 含量 (nmol/mg prot) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \times n = 25.8 \times \Delta A \div Cpr \times n$

2. 按照样本质量计算

MDA 含量 (nmol/g 鲜重) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 25.8 \times \Delta A \div W \times n$

3. 按细胞数量计算

MDA 含量 (nmol/ 10^4) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 0.0516 \times \Delta A \times n$

4. 按液体体积计算

MDA 含量 (nmol/mL) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \times n = 25.8 \times \Delta A \times n$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.0024 L； ϵ ：丙二醛摩尔消光系数， 155×10^3 L/mol/cm； d ：比色皿光径，1cm； 10^9 ：1mol = 1×10^9 nmol； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.6mL； n ：样本稀释倍数； W ：样本质量，g； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；500：细胞或细菌总数，500 万。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1036BKS 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (分光法) (WST-8 法)

PMK1037BKS 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (分光法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

