

丙二醛（MDA）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1040BKM

保存：4℃避光保存 6 个月

规格：48T/48S 96T/96S

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
	48 T	96 T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
反应液	15mL	30mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 532nm 和 600nm 处的吸光度）及水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、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℃。

反应液：即用型；使用前，平衡到室温；保存于 4℃。如果有沉淀形成，70℃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℃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℃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℃ 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. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，可见分光光度计去离子水调零。

产品说明书

2. 样本测定：吸取 0.3mL 反应液于 1.5mL 离心管中，再加入 0.1mL 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 200 μL 上清液于微量比色皿或 96 孔板中，测定 532nm 和 600nm 处的吸光度，计算 $\Delta A = A_{532} - A_{600}$ 。

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 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

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 按照蛋白浓度计算

MDA 含量 (nmol/mg prot) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) = 51.6 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

2. 按照样本质量计算

MDA 含量 (nmol/g 鲜重) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 51.6 \times \Delta A \div W$

3. 按细胞数量计算

MDA 含量 (nmol/ 10^4) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 0.1032 \times \Delta A$

4. 按液体体积计算

MDA 含量 (nmol/mL) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} = 51.6 \times \Delta A$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 4×10^{-4} L； ϵ ：丙二醛摩尔消光系数， 155×10^3 L/mol/cm； d ：96 孔板光径，0.5cm； 10^9 ：1mol = 1×10^9 nmol； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1mL； 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。

B. 使用微量比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d ：0.5cm 调整为 d ：1cm 进行计算即可。

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：

PMK1036BKM 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (微量法) (WST-8 法)

PMK1037BKM 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

