

丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1040BKM

保存: 4°C 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°C 保存
反应液	15mL	30mL	4°C 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°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. 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：

1. 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。
2. 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。
3. 如果样本本身有很明显红色，可以吸取 0.3mL 去离子水于 1.5mL 离心管中，再加入 0.1mL 样本，混匀作为样本对照。与样本测定同样的反应方式，用样本吸光度的差值减去对照吸光度的差值来消除样本本身颜色的干扰。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{532\text{测定}} - A_{600\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{对照}} = A_{532\text{对照}} - A_{600\text{对照}}$ ， $\Delta \Delta A_{\text{测定}} = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{对照}}$ 。

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：

