

丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0069	丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 60mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 30mL × 1 瓶	4℃

一、产品说明

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(malondialdehyde, MDA)。通过检测 MDA 的水平即可检测脂质氧化的水平。

MDA 与硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)缩合, 生成红色产物, 在 532nm 有最大吸收峰, 进行比色后可估测样品中过氧化脂质的含量; 同时测定 600nm 下的吸光度, 利用 532nm 与 600nm 下的吸光度的差值计算 MDA 的含量。

二、自备材料

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水。

三、样品制备

- 1、组织: 按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细菌或培养细胞: 收集不少于 500 万个细胞, 离心后取弃上清, 按照细菌或细胞数量 (104 个) : 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、血清或血浆: 直接待测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、吸取 0.6mL 试剂一于 1.5mL 离心管中, 加入 0.2mL 样本液, 上下颠倒充分混匀。
- 2、95℃ 水浴中保温 30min (盖紧离心管盖, 防止水分蒸发), 置于冰中冷却后, 10000g 25℃ 离心 10min。
- 3、吸取上清液于玻璃比色皿中, 测定 532nm 和 600nm 处的吸光值, 记为 A532 和 A600, $\Delta A = A532 - A600$ 。(蒸馏水调零。)

五、MDA 含量的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

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

需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

2、按照样本鲜重计算:

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

3、按照细胞/细菌数量计算:

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

4、按照血清/血浆体积计算:

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

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, $8 \times 10^{-4} \text{ L}$; ϵ : 丙二醛摩尔消光系数, $155 \times 10^3 \text{ L} / \text{mol} / \text{cm}$; d : 比色皿光径, 1 cm ; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.2 mL ; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL ;
 Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL ; W : 样本质量, g ; 500 : 细胞或细菌总数, 500 万。

六、注意事项

1、临用前注意试剂一是否完全溶解, 如未溶解, 可以 70°C 加热, 并振荡以促进溶解。