

丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒 (微量法)
(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 |
|---------|-------------------------|------------|
| YFX0070 | 丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒 (微量法) | 100 管/96 样 |

产品内容

| 名称 | 规格 | 储存条件 |
|-----|---|--------|
| 提取液 | 液体 100mL × 1 瓶 | 室温, 避光 |
| 试剂一 | 液体 20mL × 1 瓶 | 室温, 避光 |
| 试剂二 | 粉剂 × 2 瓶: 临用前取 1 瓶 加入 10mL 试剂一, 溶解混匀, 可 4℃ 保存一周。工作液较难溶解, 可以 70-90℃ 加热, 并剧烈震荡促进溶解, 或者通过超声处理促进溶解。 | 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 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/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品准备

- 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、细胞/细菌: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 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、血浆/血清: 按照血浆/血清: 提取液体积 (mL) 为 1:1 的比例, 充分混匀, 8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。。

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、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 600nm, 蒸馏水调零。
- 2、吸取 0.2mL 试剂一于 1.5mL 离心管中, 再加入 0.2mL 样本, 混匀。
- 3、95℃ 水浴中保温 30min (盖紧, 防止水分散失), 置于冰浴中冷却, 10000g, 25℃, 离心 10min。

4、吸取 200 μ L 上清液于微量石英比色皿或 96 孔板中, 测定 532nm 和 600nm 处的吸光度, 记为 A532 和 A600, $\Delta A = A532 - A600$ 。

五、含量的计算

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下:

1、按照组织蛋白浓度计算

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

需要另外测定蛋白浓度, 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

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

3、按照细菌/细胞密度计算

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

4、按照血清/血浆体积计算

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol}/\text{mL}) = 2 \times [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V \text{ 反总} \div V \text{ 样} = 51.6 \times \Delta A$$

V 反总: 反应体系总体积, 0.4mL; ϵ : 丙二醛摩尔消光系数, $155 \times 10^{-3} \text{ L} / \mu\text{mol} / \text{cm}$;
d: 96 孔板/比色皿光径, 0.5cm; V 样: 加入样本体积, 0.2mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; 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。

B. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下:

1、按照组织蛋白浓度计算

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol}/\text{mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times (V \text{ 反总} \div V \text{ 样}) \div \text{Cpr} = 12.9 \times \Delta A \div \text{Cpr}。$$

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

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol}/\text{g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times (V \text{ 反总} \div V \text{ 样}) \times V \text{ 样总} \div W = 12.9 \times \Delta A \div W。$$

3、按照细菌/细胞密度计算

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol}/10^4) = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times (V \text{ 反总} \div V \text{ 样}) \div (500 \div V \text{ 样总}) = 0.0258 \times \Delta A。$$

4、按照血清/血浆体积计算

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol}/\text{mL}) = 2 \times [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V \text{ 反总} \div V \text{ 样} = 25.8 \times \Delta A。$$

V 反总: 反应体系总体积, 0.4mL; ϵ : 丙二醛摩尔消光系数, $1155 \times 10^{-3} \text{ L} / \mu\text{mol} / \text{cm}$;
d: 96 孔板/比色皿光径, 1cm; V 样: 加入样本体积, 0.2mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; 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 $^{\circ}$ C-90 $^{\circ}$ C 加热, 并振荡以促进溶解。
- 2、由于工作液具有强腐蚀性, 请谨慎操作。