

丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA1065

产品规格: 50管/48样

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(MDA)。通过检测MDA的水平即可检测脂质氧化的水平。

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过氧化脂质的含量。但是测定动植物组织中MDA时受多种物质的干扰,其中最主要的是可溶性糖,其与TBA显色反应产物的最大吸收波长在450nm,但532nm处也有吸收。所以同时测定600nm、532nm、450nm下的吸光度,利用532nm与450nm、600nm下的吸光度的差值计算MDA的含量。

由于植物中受蔗糖干扰较大,动物中受葡萄糖干扰较大,所以本试剂盒有针对蔗糖和葡萄糖的两个公式。若所测样本为油脂类物质,则两个公式均可。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶	4℃
试剂一	液体30mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×2瓶	4℃
试剂三	液体10mL×1瓶	4℃

溶液的配制:

- MDA检测工作液的配制:用时在每瓶试剂二中加入15mL试剂一,溶解混匀,4℃保存待用。MDA检测工作液较难溶解,可以70℃加热,并剧烈振荡以促进溶解,或者通过超声处理以促进溶解。

所需的仪器和用品:

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

操作步骤:

一、样本处理(可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

- 细菌、细胞样本的制备:收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液,超声波破碎细菌或细胞(功率20%,超声3s,间隔10s,重复30次);8000g 4℃离心10min,取上清,置冰上待测。
- 组织样本的制备: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。
- 血清(浆):直接检测。

二、测定步骤

- 分光光度计预热30min以上,蒸馏水调零。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

2. 按下表步骤加样:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
MDA 检测工作液	600	600
蒸馏水	-	200
样本	200	-
试剂三	200	200

混合液在100°C水浴中保温60min后(盖紧,防止水分散失),置于冰浴中冷却,10000g,常温,离心10min。取上清至1mL玻璃比色皿中,测定各样本在450nm、532nm和600nm处的吸光度,分别计算 $\Delta A_{450}=A_{450_{\text{测定}}}-A_{450_{\text{空白}}}$, $\Delta A_{532}=A_{532_{\text{测定}}}-A_{532_{\text{空白}}}$, $\Delta A_{600}=A_{600_{\text{测定}}}-A_{600_{\text{空白}}}$ 。(空白管只需做1-2次)

三、MDA含量计算

1. 细菌、细胞或动物组织中MDA含量计算

(1) 按照蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{MDA含量 (nmol/mg prot)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样本}}) \\ &= 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

(2) 按照样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{MDA含量 (nmol/g质量)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \\ &= 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \div W \end{aligned}$$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{MDA含量 (nmol/10}^4 \text{ cell)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (500 \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \\ &= 0.01 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \end{aligned}$$

(4) 按照血清(浆)体积计算

$$\begin{aligned} \text{MDA含量 (nmol/mL)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div V_{\text{样本}} \\ &= 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \end{aligned}$$

V总: 反应体系总体积, 1mL; V样本: 加入样本体积, 0.2mL; 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; V提取: 提取液体积, 1mL。

2. 植物组织中MDA含量计算

(1) 按照样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{MDA含量 (nmol/g质量)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \\ &= 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \div W \end{aligned}$$

(2) 按照蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{MDA含量 (nmol/mg prot)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样本}}) \\ &= 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

V总: 反应体系总体积, 1mL; V样本: 加入样本体积, 0.2mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; V提取: 提取液体积, 1mL。

注意事项:

若发现检测样本吸光值过低, 可以将沸水浴时间60min调整为90min或者更长, 但同一实验中的MDA的检测都需要延长到同一时间以免引起误差。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com