

# 丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (微量法)

货号 : PMK1040

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）

## 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  $5 \times 10^6$  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），置于冰浴中冷却，10000g，25℃，离心 10min。吸取 200 μL 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，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  $\Delta A$  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  $\Delta A$  小于 0.001，可增加样本量进行检测。

### 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

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

2. 按照样本质量计算

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

3. 按细胞数量计算

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

4. 按液体体积计算

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

$V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积,  $4 \times 10^{-4}$  L;  $\epsilon$ : 丙二醛摩尔消光系数,  $155 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$ ;  $d$ : 96 孔板光径, 0.5cm;  $10^9$ :  $1\text{mol}=1 \times 10^9 \text{nmol}$ ;  $C_{\text{pr}}$ : 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：

PMK1047 蛋白质羰基检测试剂盒（微量法）

PMK1048 二胺氧化酶（DAO）检测试剂盒（微量法）

PMK1042 葡萄糖氧化酶（GOD）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

