

丙二醛(MDA)含量测定试剂盒

(货号: RBC0016 微板法 100T/96S)

一、产品简介:

丙二醛(malondialdehyde, MDA)是由于生物体衰老或在逆境条件下受伤害,其组织或器官膜脂质发生过氧化反应而产生的。它的含量与生物体衰老及逆境伤害有密切关系。

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、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C保存	
工作液	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	使用前将试剂一 60°C加热振荡进行充分溶解。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

四、测定步骤:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

称取约0.1g组织(水分充足的样本可取0.5g),加入1mL提取液,进行冰浴匀浆。4°C×12000rpm离心10min,取上清,置冰上待测。

[注]:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取500万细菌或细胞加入1mL提取液,在4°C或冰浴进行匀浆(使用各类常见电动匀浆器或超声破碎)。4°C约12,000rpm离心10min,取上清作为待测样品。

[注]:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③ 液体样本:直接检测。若浑浊,离心后取上清检测。



2、上机检测

① 打开酶标仪预热 30min, 同时水浴锅加热到 95°C。

② 操作表:

试剂名称 (μL)	测定管
工作液	300
样本	200

混匀后, 在 95°C 水浴中保温 30min, 取出放冰上冷却, 25°C, 12000rpm 离心 10min, 取 200μL 上清液至 96 孔板中, 分别于 532nm 和 600nm 处读取吸光度 A, $\Delta A = A^{532} - A^{600}$ 。

五、结果计算:

1、按样本质量计算:

$$\text{MDA 含量 (nmol/g 质量)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9] \div (W \times V_1 \div V) = 16.13 \times \Delta A \div W$$

2、按细胞数量计算:

$$\text{MDA 含量 (nmol/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9] \div (\text{细胞数量} \times V_1 \div V) = 16.13 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

3、按液体体积计算:

$$\text{MDA 含量 (nmol/mL)} = [\Delta A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_1 = 16.13 \times \Delta A$$

V---样本提取液的总体积, 1 mL;

V1---加入反应体系样本体积, 0.2mL;

V2---样本提取液与工作液总反应液体积, 5×10^{-4} L;

d---比色皿光径, 1cm;

ϵ ---MDA 摩尔消光系数, 155×10^3 L/mol /cm;

W---样本质量, g;

细胞数量---以万计。

注意事项:

若是样本量极少的血清, 可减少加样体积 V1 (如由 200μL 减至 25μL, 并用生理盐水或蒸馏水补齐 200μL), 则改变后的加样量 V1 需重新代入公式计算。

