

## 植物丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (TBA比色法)

产品货号: BA1781

产品规格: 50T/100T

### 产品简介:

动物或植物细胞发生氧化应激(oxidative stress)时,会发生脂质氧化。丙二醛(Malondialdehyde, MDA)是一种生物体脂质氧化的天然产物,一些脂肪酸氧化后逐渐分解为一系列包括MDA在内的复杂化合物,此时通过检测MDA的水平即可检测脂质氧化的水平,因此MDA的测定被广泛用作脂质氧化的指标。生物体内的一些其它生化反应也会产生MDA,例如thromboxane synthase也可以催化产生,但只要在测定时设置适当对照即可观察到脂质氧化水平的变化。

植物丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA比色法)(Plant MDA Assay Kit with TBA)又称脂质氧化(MDA)检测试剂盒,是采用一种基于MDA和硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)反应产生红色产物的显色反应,随后通过比色法用于对植物组织(根、茎、叶、种子等)MDA进行检测,是专门用于植物脂质氧化(lipid peroxidation)水平检测的试剂盒,不适用于动物组织、细胞、血液等。丙二醛在较高温度及酸性环境中可与TBA发生反应,形成红色的MDA-TBA加合物,MDA-TBA加合物在532nm处有最大吸收,该复合物的吸光系数为155mmol/(L.cm),并且在600nm波长处有最小吸收。植物组织中糖类物质对MDA-TBA反应有干扰,我们总结出经验公式,以消除这一干扰。亦可以通过比标准品进行比较,进行含量检测。本试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

产品组成	50T	100T	保存条件
试剂(A): 组织匀浆液	250ml	500ml	室温, 避光
试剂(B): TBA	0.35g	0.7g	室温, 避光
试剂(C): 抗氧化剂	0.5ml	1ml	室温, 避光
试剂(D): MDA标准品(1mmol/L)	0.5ml	1ml	-20℃, 避光

### 自备材料:

1. 植物根茎、叶子等
2. 剪刀
3. 离心管、小试管或96孔板
4. 分光光度计或酶标仪
5. 水浴锅或恒温箱
6. 离心机

### 操作步骤 (仅供参考):

1. 样本处理:
  - (1) 制备提取液: 取适量的植物根、茎、叶子、种子等,称量后剪碎,按每0.4g植物样品加入4ml的比例加入组织匀浆液,充分匀浆(一般取0.4~1g植物样品即可)。4000g离心10min,取上清液待用,该上清液即为MDA提取液。如果采用酶标仪检测结果,应相应减少制备提取液量,譬如取0.2g植物样品加入2ml组织匀浆液。
  - (2) 样品准备完毕后可以用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度,以便于后续计算单位蛋白重量植物样品的MDA含量。测定蛋白浓度非必须步骤,亦可采用经验公式计算。

本试剂盒对于样品中的常见化学成分的兼容性参考下表:



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

试剂类别	化学成分	是否干扰
缓冲液	HEPES (100mM)	否
	Borate (50mM)	否
	Phosphate (100mM)	否
	Tris (25mM)	否
	CHAPS ( $\leq 1\%$ )	否
去垢剂	Triton X-100 ( $\leq 1\%$ )	否
	Tween 20 ( $\leq 1\%$ )	否
	PMSF ( $\leq 200 \mu\text{M}$ )	否
	EDTA ( $\leq 1\text{mM}$ )	否
	EGTA ( $\leq 1\text{mM}$ )	否
抑制剂/螯合剂	Antipain ( $\leq 100 \mu\text{g/ml}$ )	否
	Chymostatin ( $\leq 10 \mu\text{g/ml}$ )	否
	Leupeptin ( $\leq 10 \mu\text{g/ml}$ )	否
	Trypsin ( $\leq 10 \mu\text{g/ml}$ )	否
其他	Glycerol ( $\leq 10\%$ )	否
	Sucrose (250mM)	是

- TBA工作液的配制：称取适量TBA，用组织匀浆液配制成浓度为0.68%的TBA工作液。例如取0.068g TBA用10ml组织匀浆液配制，最终浓度即为0.68%的TBA工作液。TBA工作液需完全溶解后再使用，可以加热到60℃促溶，并可通过反复剧烈Vortex促溶。配制好的TBA工作液4℃避光保存，至少1个月内有效。
- 稀释标准品：取适量标准品用组织匀浆液稀释至1、2、5、10、20、50  $\mu\text{M}$ ；如果进行简易快速检测，标准品直接稀释10  $\mu\text{M}$ ，配制好的MDA标准品4℃避光保存，至少3个月内有效。如果采用经验公式计算含量，无需标准品。
- 样品测定：
  - 分光光度计测定：在离心管或其它适当容器内加入1ml组织匀浆液作为空白对照，加入1ml提取液用于测定，随后加入1ml TBA工作液。可参考下表设置检测反应体系，依次加入试剂：

	空白管	标准管	测定管
组织匀浆液	1ml	-	-
标准品(可选步骤)	-	1ml	-
MDA提取液	-	-	1ml
抗氧化剂	0.005ml	0.005ml	0.005ml
TBA工作液	1ml	1ml	1ml

- 酶标仪测定：在离心管或其它适当容器内加入200  $\mu\text{l}$ 组织匀浆液作为空白对照，加入1ml提取液用于测定，随后加入1ml TBA工作液。可参考下表设置检测反应体系，依次加入试剂：

	空白管	标准管	测定管
组织匀浆液	200 $\mu\text{l}$	-	-
标准品(可选步骤)	-	200 $\mu\text{l}$	-
MDA提取液	-	-	200 $\mu\text{l}$
抗氧化剂	0.001ml	0.001ml	0.001ml
TBA工作液	200 $\mu\text{l}$	200 $\mu\text{l}$	200 $\mu\text{l}$

- 混匀,加盖, 95℃水浴煮沸30min, 加热时务必注意避免液体暴沸溅出。如果使用加热块(Heat block)进行加热注意用重物压紧离心管盖；如果使用沸水浴, 则需使用可把盖子锁死的离心管或螺旋盖离心管, 或用Parafilm



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

封住离心管口，用针头刺一小孔。最方便和准确的加热方法是使用带有热盖并可以加热的金属浴或者0.5mlPCR仪。

(4) 水浴，冷却至室温，4000g离心10min。

5. 取上清，蒸馏水调零，用分光光度计或酶标仪检测532nm处吸光值，如果不方便测定532nm的吸光度，也可以测定530-540nm之间的吸光度。如果采用经验公式计算，应分别测定450nm、532nm、600nm出吸光度值。

#### 计算：

对于MDA提取液直接根据标准曲线计算；如果进行简易快速检测，直接以10 μM标准品进行计算，获得MDA的摩尔浓度；如果采用经验公式，无需制作标准曲线或测定标准品。对于固体状组织，可以通过单位重量的蛋白含量或组织重量等来表示最初样品中的MDA含量，例如 μmol/mg蛋白或 μmol/mg组织。

简易快速MDA含量计算公式：

MDA含量(μmol/mg)=(OD测定-OD空白)/(OD标准-OD空白)×标准品浓度/提取物浓(g/ml)

不采用标准品的经验公式：

MDA浓度(μmol/L)=6.45×(OD532-OD600)-0.56×OD450

MDA含量(μmol/mg)=MDA浓度(μmol/L)×提取液体积(ml)/植物组织鲜重(g)

OD532=待测样品的532nm处吸光度值

OD600=待测样品的600nm处吸光度值

OD450=待测样品的450nm处吸光度值

#### 注意事项：

1. 上述低温试剂避免反复冻融，以免失效或效率下降。
2. 待测提取液如不能及时测定，应置于-20℃保存，4天内稳定。

**保存条件：** 12个月有效。4℃运输，4℃保存。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com