

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	-20°C, 避光
试剂(D): MDA标准品(1mmol/L)	0.5ml	1ml	-20°C, 避光

自备材料:

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

操作步骤 (仅供参考):

1. 样本处理:

- (1) 制备MDA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的量, 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。
- (3) 本试剂盒对于样品中的常见化学成分的兼容性参考下表:

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
去垢剂	CHAPS ($\leq 1\%$)	否
	Triton X-100 ($\leq 1\%$)	否
	Tween 20 ($\leq 1\%$)	否



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

抑制剂/螯合剂	PMSF ($\leq 200\mu\text{M}$)	否
	EDTA ($\leq 1\text{mM}$)	否
	EGTA ($\leq 1\text{mM}$)	否
	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°C促溶，并可通过反复剧烈Vortex促溶。配制好的TBA工作液4°C避光保存，至少1个月内有效。
- 稀释标准品：如果进行简易快速检测，标准品直接稀释10 μM ；如果进行精确检测，取适量标准品用组织匀浆液稀释至1、2、5、10、20、50 μM ；如果采用经验公式计算含量，无需标准品；配制好的MDA标准品4°C避光保存，至少3个月内有效。
- 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 MDA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：

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

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

加入物质 (μl)	空白管	标准管	测定管
组织匀浆液	200	-	-
标准品(可选步骤)	-	200	-
MDA提取液	-	-	200
抗氧化剂	1	1	1
TBA工作液	200	200	200

- 混匀,加盖, 95°C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0.5ml PCR仪。
- 冷水浴或流水冷却至室温, 4000g离心10min。
- 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。分别记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ ；如果采用经验公式计算, 应分别测定450nm、532nm、600nm出吸光度值, 分别记为 A_{450} 、 A_{532} 、 A_{600} 。

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；如果需要精确计算, 以MDA标准品浓度为横坐标, 以对应的吸光度为纵坐标, 制作



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

标准曲线，根据标准曲线计算处MDA提取液的浓度;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 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 蛋白或 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 组织。

简易快速MDA含量计算公式：

MDA含量($\mu\text{mol}/\text{mg}$)=($A_{\text{测定}}-A_{\text{空白}}$)/($A_{\text{标准}}-A_{\text{空白}}$) \times 标准品浓度/提取物浓(mg/ml)

式中： $A_{\text{测定}}$ =待测样品的532nm处吸光度值

$A_{\text{标准}}$ =标准品的532nm处吸光度值

$A_{\text{空白}}$ =空白对照的532nm处吸光度值

标准品浓度=10 μM

蛋白质质量浓度 (mg/ml) =BCA法测定的蛋白浓度 (mg/ml)

不采用标准品的经验公式：

MDA浓度($\mu\text{mol}/\text{L}$)=6.45 \times ($A_{532}-A_{600}$)-0.56 \times A_{450}

MDA含量($\mu\text{mol}/\text{mg}$)=MDA浓度($\mu\text{mol}/\text{L}$) \times MDA提取液体积(ml)/植物组织鲜重(g)

式中： A_{532} =待测样品的532nm处吸光度值

A_{600} =待测样品的600nm处吸光度值

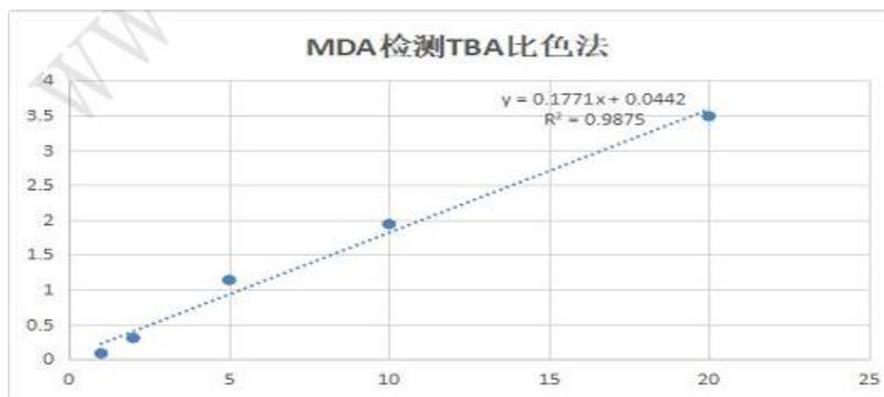
A_{450} =待测样品的450nm处吸光度值

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. 如果没有分光光度计，也可以使用酶标仪测定，检测样品量会相应增加。
3. 待测样品尽量新鲜，提取后应尽快检测，以免活性下降。
4. 待测MDA提取液如不能及时测定，应置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存，4天内稳定。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
6. 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

保存条件： 12个月有效。

附录： 参考标准曲线范围：尚宝测定MDA标准在10 μM 时，通过分光光度计测定其吸光度多在1.4~1.8之间。尚宝测定MDA标准在1、2、5、10、20 μM 时吸光度，据此尚宝作出其标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考对于要求精确计算MDA含量的，可以进行多点测定；根据尚宝测定经验显示，标准品浓度在2 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 以下，标准品浓度在50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 以上，标准曲线会有偏差。



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