

丙二醛(MDA)含量试剂盒说明书**微量法****货号：AM0251****产品规格**

100T/96 样

产品内容

使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存

溶液的配制：

MDA 检测工作液的配制：临用前将试剂二加入 30mL 试剂一中，溶解混匀，2-8℃保存一个月。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。

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：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 MDA。通过检测 MDA 的水平即可检测脂质氧化的水平。

测定原理：

MDA 与硫代巴比妥酸(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。

需自备的仪器和用品：可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

注意事项：

临用前注意试剂一是否完全溶解，如未溶解，可以 70℃加热，并振荡以促进溶解。

MDA 提取：**1、细菌、细胞或组织样品的制备：**

细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，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：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 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。

2、血清（浆）样品：直接检测。**测定步骤：**

- 1、吸取 0.3mL 试剂一于 1.5mL 离心管中，再加入 0.1mL 样本，混匀。
- 2、95°C水浴中保温 30min（盖紧，防止水分散失），置于冰浴中冷却，10000g，25°C，离心 10min。
- 2、吸取 200μL 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，记为 A532 和 A600， $\Delta A = A532 - A600$ 。

MDA 含量计算：**a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下**

- 1、血清（浆）中 MDA 含量的计算：

$$\text{MDA 含量(nmol/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} = 25.8 \times \Delta A$$

- 2、细菌、细胞或动物组织中 MDA 含量计算

- (1) 按照蛋白浓度计算

$$\text{MDA 含量(nmol/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) = 25.8 \times \Delta A \div Cpr$$

需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

- (2) 按照样品质量计算

$$\text{MDA 含量(nmol/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 25.8 \times \Delta A \div W$$

- (3) 按照细菌或细胞密度计算：

$$\text{MDA 含量(nmol/10}^4\text{)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 0.0516 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积， 4×10^{-4} L； ϵ ：丙二醛摩尔消光系数， 155×10^3 L / mol / cm；
d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.1 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；
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。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

- 1、血清（浆）中 MDA 含量的计算：

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

- 2、细菌、细胞或动物组织中 MDA 含量计算

- (1) 按照蛋白浓度计算

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

需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

- (2) 按照样品质量计算

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

- (3) 按照细菌或细胞密度计算：

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

V 反总：反应体系总体积， 4×10^{-4} L； ϵ ：丙二醛摩尔消光系数， 155×10^3 L / mol / cm；
d：96 孔板光径，0.5cm；V 样：加入样本体积，0.1 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；
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。