

丙二醛(MDA)含量试剂盒说明书

分光光度法

货号：AM0241

产品规格

50 管/48 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 60mL×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。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、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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 0.6mL 试剂一于 1.5mL 离心管中，再加入 0.2mL 样本，混匀。

2、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。

2、吸取上清液于 1mL 玻璃比色皿中，测定 532nm 和 600nm 处的吸光度，记为 A532 和 A600， $\Delta A = A532 - A600$ 。

MDA 含量计算：

1、血清（浆）中 MDA 含量的计算：

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

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

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：

MDA 含量(nmol/10⁴)=[$\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9$] $\div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}})$ = 0.0516 $\times \Delta A$

V 反总：反应体系总体积，8 $\times 10^{-4}$ L； ϵ ：丙二醛摩尔消光系数，155 $\times 10^3$ L/mol/cm；

d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.2 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。