

丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒 (分光光度计法)  
(本试剂盒仅供科研使用)

### 产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0069	丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒	50 管/48 样

### 产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 60mL × 1 瓶	室温, 避光
试剂一	液体 40mL × 1 瓶	室温, 避光
试剂二	粉剂 × 2 瓶	4℃, 避光

**工作液的配置:** 临用前根据用量, 每瓶加入 20mL 试剂一, 溶解混匀, 4℃ 可保存一周。工作液较难溶解, 可 70℃-90℃ 加热、并剧烈震荡促进溶解, 或通过超声处理促进溶解。

### 一、产品说明

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, 其中包括丙二醛(malondialdehyde, MDA)。通过检测 MDA 的水平即可检测脂质氧化的水平。

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、自备材料

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水。

### 三、样品制备

- 1、组织: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 冰浴匀浆后, 8000g 4℃ 离心 10min, 取上清液置于冰上待测。
- 2、细菌或培养细胞: 收集不少于 500 万个细胞, 离心后取弃上清, 加入 1mL 提取液, 超声破碎(冰浴, 功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 8000g 4℃ 离心 10min, 取上清液放置于冰上待测。
- 3、血清或血浆: 按照血清/血浆体积: 提取液体积 (mL) 为 1:1 的比例, 充分混匀。8000g 4℃ 离心 10min, 取上清液放置于冰上待测。

### 四、操作步骤

**正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。**

- 1、吸取 0.5mL 工作液于 2mL 离心管中, 加入 0.5mL 样本液, 上下颠倒充分混匀。
- 2、95℃ 水浴中保温 30min (盖紧离心管盖, 防止水分蒸发), 置于冰中冷却后, 10000g 25℃ 离心 10min。
- 3、吸取 1mL 上清液于玻璃比色皿中, 测定 532nm 和 600nm 处的吸光值, 记为 A532 和

A600,  $\Delta A = A532 - A600$ 。

## 五、MDA 含量的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol} / \text{mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times (V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}}) \div \text{Cpr} = 12.9 \times \Delta A \div \text{Cpr}。$$

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、按照样本鲜重计算:

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol} / \text{g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times (V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}}) \times V_{\text{样总}} \div W = 12.9 \times \Delta A \div W。$$

3、按照细胞/细菌数量计算:

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol} / 10^4 \text{ Cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times (V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}}) \div (500 \div V_{\text{样总}}) = 0.0258 \times \Delta A。$$

4、按照血清/血浆体积计算:

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol} / \text{mL}) = 2 \times [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 25.8 \times \Delta A。$$

V 反总: 反应体系总体积, 1mL;  $\epsilon$ : 丙二醛摩尔消光系数,  $155 \times 10^{-3} \text{ L} / \mu\text{mol} / \text{cm}$ ;

d: 比色皿光径, 1cm; V 样: 加入样本体积, 0.5 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。

## 六、注意事项

1、临用前注意试剂一是否完全溶解, 如未溶解, 可以  $70^{\circ}\text{C} - 90^{\circ}\text{C}$  加热, 并振荡以促进溶解。