丙二醛（MDA）含量检测试剂盒（微量法）
（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
YFX0070	丙二醛（MDA）含量检测试剂盒（微量法）	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL ×1 瓶	室温，避光
试剂一	液体 20mL ×1 瓶	室温，避光
试剂二	粉剂 ×2 瓶：临用前取 1 瓶 加入 10mL 试剂一，溶解混匀，配制成工作液（可 4℃保存一周）。工作液较难溶解，可以 70-90℃加热，并剧烈震荡促进溶解，或者通过超声处理促进溶解。	4℃

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 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/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品准备

1、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、细胞/细菌：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。

3、血浆/血清：按照血浆/血清：提取液体积（mL）为 1:1 的比例，充分混匀，8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

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、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 600nm，蒸馏水调零。

2、吸取 0.2mL 工作液于 1.5mL 离心管中，再加入 0.2mL 样本，混匀。

3、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。

4、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，ΔA= A532-A600。

五、含量的计算

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下：

1、按照组织蛋白浓度计算

MDA 含量(nmoL/ mg prot)=[ΔA÷(ε×d)]×(V 反总÷V 样)÷Cpr =25.8×ΔA÷Cpr。

需要另外测定蛋白浓度，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

MDA 含量(nmoL/g 鲜重)=[ΔA÷(ε×d)]×(V 反总÷V 样) ×V 样总÷W =25.8×ΔA÷W。

3、按照细菌/细胞密度计算

MDA 含量(nmoL/ 10^4)= [ΔA÷(ε×d)]×(V 反总÷V 样)÷（500÷V 样总）=0.0516×ΔA。

4、按照血清/血浆体积计算

MDA 含量(nmoL/mL)=2×[ΔA÷(ε×d)]×V 反总÷V 样 =51.6×ΔA

V 反总：反应体系总体积，0.4mL；ε：丙二醛摩尔消光系数，155×10^{-3} L / μmoL /cm；d：96 孔板/比色皿光径，0.5cm；V 样：加入样本体积，0.2mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；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. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下：

1、按照组织蛋白浓度计算

MDA 含量(nmoL/ mg prot)=[ΔA÷(ε×d)]×(V 反总÷V 样)÷Cpr = 12.9× ΔA ÷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

MDA 含量(nmoL/g 鲜重)=[ΔA÷(ε×d)]×(V 反总÷V 样)×V 样总÷W =12.9×ΔA ÷W。

3、按照细菌/细胞密度计算

MDA 含量(nmoL/10^4)=[ΔA÷(ε×d)]×(V 反总÷V 样)÷(500÷V 样总)=0.0258×ΔA。

4、按照血清/血浆体积计算

MDA 含量(nmoL/ mL)=2×[ΔA÷(ε×d)]×V 反总÷V 样=25.8×ΔA。

V 反总：反应体系总体积， 0.4m L；ε：丙二醛摩尔消光系数，1155×10^{-3} L / μmoL /cm；d：96 孔板/比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.2mL；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℃-90℃加热，并振荡以促进溶解。
2、 如果用高温助溶工作液，需要待其冷却至室温后再使用。
3、 为防止 90℃水浴过程中水分散失，建议使用螺旋管或用封口膜给 EP 管缠口。
4、 待测液如果尚未澄清，可吸取上清液后再次离心。
5、 ΔA 的范围为 0.005-1.5，若小于 0.005 可增加样本质量； 若大于 1.5，需要对样本进行稀释，计算结果时，乘以稀释倍数。