

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0616

Size: 50T/48S

丙二醛 (MDA) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、测定原理:

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。

三、需自备的仪器和用品:

可见分光光度、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。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4°C 保存	-

五、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°C 加热,并振荡以促进溶解。

六、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。

七、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。

3、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， $\Delta A = A532 - A600$ 。（蒸馏水调零）

八、MDA 含量计算：

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

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

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， 8×10^{-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，0.2 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。