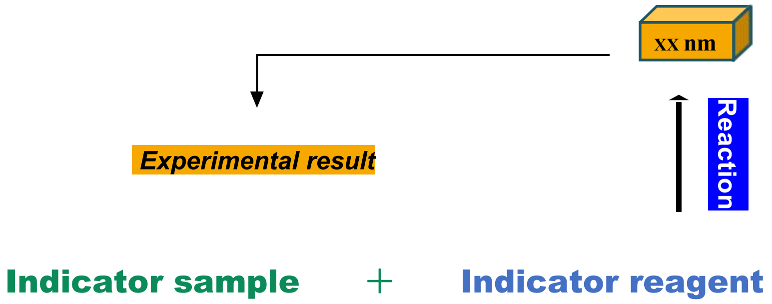
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

丙二醛(malondialdehyde，MDA)含量试剂盒说明书
微量法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

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(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。

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。

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 100mL×1 瓶	4℃保存	–
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	–

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、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，Δ 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：

MDA 含量(nmol/ mL)=[ΔA×V 反总÷(ε×d)×10^9]÷V 样=25.8×ΔA

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)=[ΔA×V 反总÷(ε×d)×10^9]÷(Cpr×V 样)=25.8×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）按照样品质量计算

MDA含量(nmol/g 鲜重)=[ΔA×V反总÷(ε×d)×10^9]÷(W×V样÷V样总)
=25.8×ΔA ÷W

(3) 按照细菌或细胞密度计算：

MDA含量(nmol/10^4)=[ΔA×V 反总÷(ε×d)×10^9]÷(500×V 样÷V 样总)=0.0516×ΔA

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

MDA含量(nmol/mL)=[ΔA×V 反总÷(ε×d)×10^9]÷V 样=51.6×ΔA

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)=[ΔA×V反总÷(ε×d)×10^9]÷(Cpr×V 样)=51.6×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)按照样品质量计算

MDA含量(nmol/g 鲜重)=[ΔA×V 反总÷(ε×d)×10^9]÷(W×V样÷V样总)=51.6×ΔA÷W

(3) 按照细菌或细胞密度计算：

MDA含量(nmol/10^4)=[ΔA×V 反总÷(ε×d)×10^9]÷(500×V 样÷V 样总)=0.1032×ΔA

V 反总：反应体系总体积，4×10^{-4}L； ε：丙二醛摩尔消光系数，155×10^3L/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。