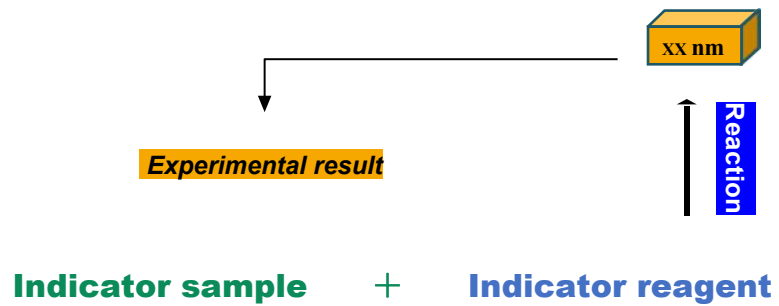


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量试剂盒说明书

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

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、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。

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℃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 0.6mL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）

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

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

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) 按照样品质量计算

$$\begin{aligned} \text{MDA 含量 (nmol/g 鲜重)} &= [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 25.8 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

(3) 按照细菌或细胞密度计算:

$$\begin{aligned} \text{MDA 含量 (nmol/10}^4\text{)} &= [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 0.0516 \times \Delta A \end{aligned}$$

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。