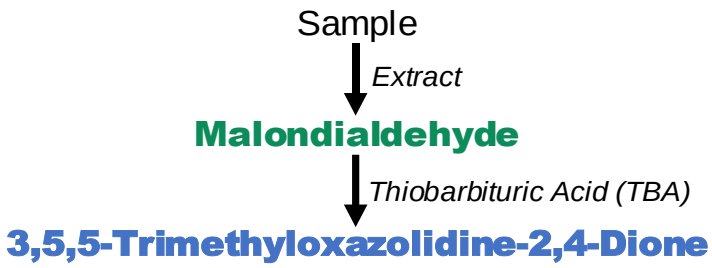
丙二醛（MDA）含量检测试剂盒

Malondialdehyde (MDA) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Catalog Number **AKFA013C**
Storage Temperature **2-8°C**
Size **60T/50S**

Visible Spectrophotometry

丙二醛（MDA）含量检测试剂盒

Malondialdehyde (MDA) Content Assay Kit

一、产品描述

生物体内脂质过氧化反应的终产物为丙二醛（MDA），丙二醛会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合，且具有细胞毒性，其含量是反映机体抗氧化潜在能力的重要参数，可以反映机体脂质过氧化速率和强度，也能间接反映组织过氧化损伤程度。

丙二醛在酸性和高温条件下，能够与硫代巴比妥酸（Thiobarbituric Acid，TBA）反应生成红色三甲川（3,5,5-三甲基恶唑-2,4-二酮），产物在 532 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测丙二醛的含量。需要特殊注意的是测定动植物组织中丙二醛含量时受多种物质的干扰，其中最主要的是可溶性糖，可溶性糖同样能够与硫代巴比妥酸显色，最大吸收波长为 532 nm，但 450 nm 处也有吸收，所以必须同时测定 600 nm、532 nm、450 nm 处吸光值，通过 532 nm、450 nm 和 600 nm 处吸光值的差值即可准确定量检测丙二醛的含量。

Boxbio-丙二醛含量检测试剂盒中含有样本中大分子干扰物质专用去除试剂与步骤：能够有效防止产物三甲川与大分子物质形成复合物，避免沉淀出现产物造成误差情况，确保实验结果的准确。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液		液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一		液体 8 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	**组分 A**	粉剂×2 瓶	4°C避光保存	**使用前取一瓶组分 A 加入 20 mL 组分 B**（充分溶解即为**检测工作液**，4°C可保存一个月）
	组分 B	液体 20 mL×2 瓶	4°C避光保存	
试剂三		液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-

注：①检测工作液较难溶解，建议 60-70°C加热并充分振荡混匀或超声以促进溶解；

②检测工作液低温保存过程中可能出现固体析出属于正常现象，恢复至室温后超声促进溶解后使用即可。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、**密封性良好螺纹盖离心管（推荐冻存管）**、封口膜、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，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 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，分别调节波长至 450 nm、532 nm、600 nm，蒸馏水调零。

②在密封性良好的**螺纹盖离心管**中依次加入下列试剂：

试剂	测定管（μL）	空白管（μL）
待测样本	300	-
蒸馏水	-	300
试剂一	100	100
充分混匀，沸水浴处理 5 min，冰浴冷却至室温 8000 g 常温离心 10 min，**取上清液**		
上清液	300	300
检测工作液	500	500
试剂三	200	200
充分混匀，沸水浴处理 60 min，冰浴冷却至室温 8000 g 常温离心 10 min，**取上清液**		

注：沸水浴处理过程温度高且时间长，注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：将上清液置于 1 mL 玻璃比色皿中，分别测定 450 nm、532 nm 和 600 nm 处吸光值，计算$\Delta A_{450}=A_{450}$测定$-A_{450}$空白，$\Delta A_{532}=A_{532}$测定$-A_{532}$空白，$\Delta A_{600}=A_{600}$测定$-A_{600}$空白。注：空白管只需测定 1-2 次。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.丙二醛（MDA）含量计算

3.1 细菌、细胞或动物组织中 MDA 含量计算

①按动物组织蛋白浓度计算

MDA含量（nmol/mg prot）$= [6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-1.29\times\Delta A_{450}]\times V_1\times(V_2\div V_3)\div V_5\div Cpr\times D$

$= 4.44\times[6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-1.29\times\Delta A_{450}]\div Cpr\times D$

②按动物组织质量计算

MDA含量（nmol/g）$= [6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-1.29\times\Delta A_{450}]\times V_1\times(V_2\div V_3)\times(V_4\div V_5)\div W\times D$

$= 4.44\times[6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-1.29\times\Delta A_{450}]\div W\times D$

③按细菌或细胞数量计算

MDA含量（nmol/10^4 cell）$= [6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-1.29\times\Delta A_{450}]\times V_1\times(V_2\div V_3)\times(V_4\div V_5)\div cell\times D$

$= 4.44\times[6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-1.29\times\Delta A_{450}]\div cell\times D$

④按液体样本体积计算

MDA含量（nmol/mL）$= [6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-1.29\times\Delta A_{450}]\times V_1\times(V_2\div V_3)\div V_5\times D$

$= 4.44\times[6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-1.29\times\Delta A_{450}]\times D$

3.2植物组织中MDA含量计算

①按植物组织蛋白浓度计算

MDA含量（nmol/mg prot）$= [6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-0.56\times\Delta A_{450}]\times V_1\times(V_2\div V_3)\div V_5\div Cpr\times D$

$= 4.44\times[6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-0.56\times\Delta A_{450}]\div Cpr\times D$

②按植物组织质量计算

MDA含量（nmol/g）$= [6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-0.56\times\Delta A_{450}]\times V_1\times(V_2\div V_3)\times(V_4\div V_5)\div W\times D$

$= 4.44\times[6.45\times(\Delta A_{532}-\Delta A_{600})-0.56\times\Delta A_{450}]\div W\times D$

注释：V_1：显色体系总体积（$V_{上清}+V_{检测工作液}+V_{试剂三}$），1 mL；V_2：反应体系总体积（$V_{待测样本}+V_{试剂一}$），0.4 mL；V_3：显色体系中加入上清液的体积，0.3 mL；V_4：待测样本总体积，1 mL；V_5：反应体系中加入待测样本的体积，0.3 mL；Cpr：待测样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；cell：细菌或细胞数量，以万计，若500万细菌或细胞带入500即可；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为1。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

四、注意事项

①**反应结束后生成的红色产物三甲川可能与样本中大分子物质形成复合物：**最后一步沸水浴处理后离心取上清时，正常情况下沉淀不应出现红色，若沉淀中有红色物质出现表明三甲川产物与大分子物质形成了复合物，此时上清中产物浓度是被低估的，会造成结果误差；

Boxbio-丙二醛含量检测试剂盒中有样本中大分子物质专用去除试剂与步骤：能够有效防止三甲川与大分子物质形成复合物，避免沉淀出现产物造成误差情况，确保实验结果的准确，建议注意观察最后一步离心沉淀颜色情况，若有异常情况请随时与技术支持取得联系：400-805-8228（7×24 h）；

②植物样本中受蔗糖干扰较大，动物中受葡萄糖干扰较大，本试剂盒有针对蔗糖和葡萄糖的两个公式，若所测样品为油脂类物质，则两个公式均可；

③吸光值正常范围：532 nm处为产物特征峰，需控制ΔA532在0.05-1.0范围之内，若吸光值未在正常范围内，可参照下述方法进行调整，计算时相应修改计算公式参数即可，建议做好预实验。

- **若ΔA532小于0.05：**需制备更高浓度样本后再进行测定，组织样本待测样本浓度可由10%（w/v）最高提高至20%（w/v），细菌或细胞类样本待测样本浓度可由500万/mL最高提高至2000万/mL；
- **若ΔA532大于1.0：**建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；

④450 nm 和 600 nm 为样本中糖类物质干扰物特征峰，ΔA450 和ΔA600 与样本中干扰物含量相关，ΔA450 和ΔA600 控制在 1.0 以下即可；

⑤更换波长后在检测前需再次使用蒸馏水对分光光度计进行调零；

⑥为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

Notes:

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.