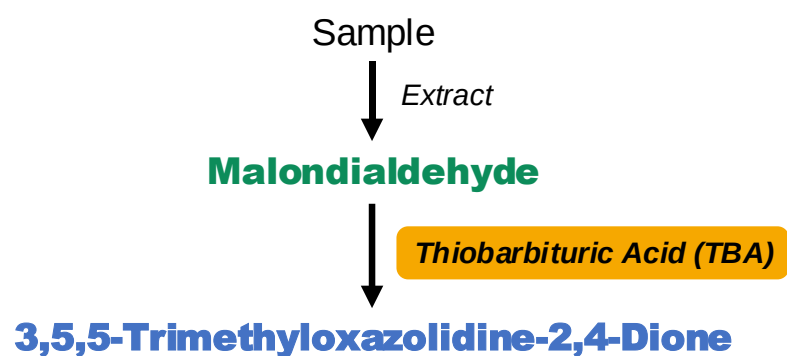




丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒
Malondialdehyde (MDA) Content Assay Kit



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



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 (TBA) 反应生成棕红色三甲川 (3,5,5-三甲基恶唑-2,4-二酮)，最大吸收波长为 532 nm，在此波长下进行比色可估测样品中过氧化脂质的含量。但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，可溶性糖能够与 TBA 显色，最大吸收波长为 450 nm，但 532 nm 处也有吸收，所以同时测定 600 nm、532 nm、450 nm 下的吸光值，通过 532 nm、450 nm 和 600 nm 处吸光值的差值即可定量检测丙二醛的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂一	液体 20 mL×2 瓶	4°C 避光保存
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C 避光保存
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存
MDA 检测工作液：使用前每瓶试剂二中加入 20 mL 试剂一充分溶解。		

注意：MDA 检测工作液较难溶解，可以 70°C 加热并剧烈振荡或超声以促进溶解。

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/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴和蒸馏水。

1. 样品处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①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 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②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°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

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分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	空白管 (μL)
MDA 检测工作液	300	300
待测样本	100	-
蒸馏水	-	100
试剂三	100	100
沸水浴处理 60 min，冰浴冷却至室温		
10000 g 常温离心 10 min，取上清		

吸光值测定：吸取 200 μL 上清液至微量玻璃比色皿或 96 孔板中，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。

3.丙二醛（MDA）含量计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

(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

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/mg prot)} &= (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 2.58 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \\ &= 5 \times (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 2.58 \times \Delta A_{450}) \div C_{\text{pr}}\end{aligned}$$

②按动物组织质量计算

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/g)} &= (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 2.58 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \\ &= 5 \times (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 2.58 \times \Delta A_{450}) \div W\end{aligned}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/10}^4\text{ cell)} &= (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 2.58 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \\ &= 0.01 \times (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 2.58 \times \Delta A_{450})\end{aligned}$$

④按液体样本体积计算

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/mL)} &= (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 2.58 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div V_{\text{样}} \\ &= 5 \times (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 2.58 \times \Delta A_{450})\end{aligned}$$

(2) 植物组织中MDA含量计算

①按植物组织质量计算

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/g)} &= (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.12 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \\ &= 5 \times (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.12 \times \Delta A_{450}) \div W\end{aligned}$$

②按植物组织蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/mg prot)} &= (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.12 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \\ &= 5 \times (12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.12 \times \Delta A_{450}) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

(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

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/mg prot)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \\ &= 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

②按动物组织质量计算

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/g)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}}) \\ &= 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \div W\end{aligned}$$

③按照细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/10}^4\text{ cell)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \\ &= 0.01 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450})\end{aligned}$$

④按液体样本体积计算

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/mL)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div V_{\text{样}} \\ &= 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450})\end{aligned}$$

(2) 植物组织中MDA含量计算

①按植物组织质量计算

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/g)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \\ &= 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \div W\end{aligned}$$

②按植物组织蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{MDA含量 (nmol/mg prot)} &= (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \\ &= 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

注释： V总：体系总体积，0.5 mL； V样：反应体系中加入待测样本的体积，0.1 mL； V提：提取液体积，1 mL； Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL； W：样品质量，g； 500：细胞或细菌总数，以万计。

四、注意事项

①若检测样本吸光值过低，可适当调整沸水浴时间（60 min调整为90 min或者更长），但同一实验中的MDA检测均需延长至同一时间以免引起误差；

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.

