

丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量测试盒说明书

(分光法 96 样)

一、产品简介：

丙二醛（MDA）是由于生物体衰老或在逆境条件下受伤害，其组织或器官膜脂质发生过氧化反应而产生的。它的含量与生物体衰老及逆境伤害有密切关系。MDA 在高温、酸性条件下，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。

二、试剂盒的组分与配制

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 110mL×1 瓶	4℃保存	
工作液	液体 60mL×1 瓶	4℃避光保存	若有沉淀析出，50℃水浴至溶解。溶解后一个月内使用完毕可室温避光保存，长期保存则需 4 度避光保存（保存期间若有沉淀析出可再次 50℃水浴至溶解待用）。

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、丙二醛（MDA）的测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，在 4℃ 或冰浴进行匀浆(使用各类常见电动匀浆器或超声破碎)。4℃ 约 12,000rpm 离心 10min，取上清作为待测样品。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4)：提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

③ 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测

① 打开分光光度计预热 30min，蒸馏水调零，同时水浴锅加热到 90-95℃。

② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管
工作液	600
样本	400
混匀后，在 90-95℃ 水浴中保温 30min，取出放冰上冷却，25℃,12000rpm 离心 10min，转移全部上清液于 1mL 玻璃比色皿中，分别于 532nm 和 600nm 处读取吸光度 A， $\Delta A = A_{532} - A_{600}$ 。	

【注】：若是样本量极少的血清，可减少加样体积 V1（如由 400μL 减至 50μL，并用生

理盐水或蒸馏水补齐 400 μ L), 则改变后的加样量 V1 需重新代入公式计算。

五、结果计算:

1、按样本鲜重计算:

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol/g 鲜重})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9] \div (W \times V_1 \div V) = 16.1 \times \Delta A \div W$$

2、按细胞数量计算:

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9] \div (500 \times V_1 \div V) = 0.032 \times \Delta A$$

3、按液体体积:

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol}/\text{mL})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9] \div V_1 = 16.1 \times \Delta A$$

V---样本提取液的总体积, 1 mL;

V1---加入反应体系样本体积, 0.4mL;

V2---样本加入量与工作液总反应液体积, 1×10^{-3} L; d---比色皿光径, 1cm;

ϵ ---MDA 摩尔消光系数, 155×10^3 L / mol / cm; W---样本质量, g。

500---细胞数量, 万。
