

丙二醛(MDA)含量检测试剂盒说明书

货号：RX866W96 规格：100 管/96 样 方法：酶标仪法

一、注意事项

- 1.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测。
- 2.本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	100 mL×1	4℃	
试剂一	30 mL×1	4℃	棕色瓶保存

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱。

四、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 1 mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10 min，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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。

2、血清（浆）样品：直接检测。

五、测定步骤：

- 1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 532 nm 处。
- 2.在 1.5 mL 离心管中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管
试剂一 (μL)	300
样本 (μL)	100
95°C水浴 30 min (盖紧, 防止水分散失), 置于冰浴中冷却后, 10000 g, 常温离心 10 min。吸取 200 μL 上清液于 96 孔板中, 测定532 nm和600 nm 处的吸光度, 记为A532 和A600, ΔA=A532-A600。	

六、计算:

1、血清(浆)中MDA含量的计算:

丙二醛(MDA)含量(nmol/mL)=[ΔA×V反总÷(ε×d)×10⁹]÷V样=43.01×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

丙二醛(MDA)含量(nmol/mg prot)=[ΔA×V反总÷(ε×d)×10⁹]÷(Cpr×V样)=43.01×ΔA÷Cpr

(2) 按照样品质量计算

丙二醛(MDA)含量(nmol/g 鲜重)=[ΔA×V反总÷(ε×d)×10⁹]÷(W×V样÷V样总)=43.01×ΔA÷W

(3) 按照细菌或细胞密度计算:

丙二醛(MDA)含量(nmol/10⁴)=[ΔA×V反总÷(ε×d)×10⁹]÷(500×V样÷V样总)=0.086×ΔA

V反总: 反应体系总体积, 4×10⁴L; ε: 丙二醛摩尔消光系数, 155×10³ L/mol/cm;
d: 96孔板光径, 0.6 cm; 10⁹: 单位换算系数, 1 mol=10⁹ nmol; 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。

八、产品简介

丙二醛是膜脂过氧化最重要的产物之一, 其含量可以反映生物遭受逆境伤害的程度。当生物遭受逆境胁迫时, 活性氧自由基累积到一定浓度后, 生物抗氧化机制开始作用。当抗氧化机制不能将活性氧自由基的产生和清除维持在平衡状态时, 过量的活性氧会导致组织或器官膜脂发生过氧化反应, 产生丙二醛。