丙二醛（MDA）含量检测试剂盒说明书

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℃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）×10^9]÷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）×10^9]÷（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）×10^9]÷（W×V 样÷V 提取）=43.01×ΔA÷W

（3）按照细菌或细胞密度计算：

丙二醛（MDA）含量(nmol/10^4)=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷（N×V 样÷V 提取）=43.01×ΔA÷N

V 反总：反应体系总体积，4×10^{-4} L；ε：丙二醛摩尔消光系数，155×10^3 L / mol /cm；d：96 孔板光径，0.6 cm；10^9：单位换算系数，1 mol=10^9 nmol；V 样：加入样本体积，0.1 mL；V 提取：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；N：细胞或细菌总数，万个。

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。