

丙二醛(MDA)含量检测试剂盒说明书

Malondialdehyde Assay Kit

微量法

货号: AK289

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液 ES08	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK289-A	30mL×1 瓶	4℃保存;
临用前注意: AK289-A 是否完全溶解, 如未溶解, 可以 70℃加热, 并振荡以促进溶解。		

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 脂质氧化终产物丙二醛 (MDA) 在体外影响线粒体呼吸链复合物及线粒体内关键酶活性。

MDA 是膜脂过氧化最重要的产物之一, 它的产生还能加剧膜的损伤因此在植物衰老生理和抗性生理研究中 MDA 含量是一个常用指标, 可通过 MDA 了解膜脂过氧化的程度, 以间接测定膜系统受损程度以及植物的抗逆性。

原理: MDA 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。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

MDA 提取液:

1. 细菌、细胞样品的制备: 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 ES08 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液 ES08), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 组织样品的制备: 按照组织质量 (g): 提取液 ES08 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液 ES08), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
3. 血清 (浆) 样品: 直接检测。

测定步骤:

1. 吸取 0.3mL AK289-A 于 1.5mL 离心管中, 再加入 0.1mL 样本, 混匀。
2. 95℃水浴中保温 30min (盖紧, 防止水分散失), 置于冰浴中冷却, 10000g, 25℃, 离心 10min。
3. 吸取 200μL 上清液于微量石英比色皿或 96 孔板中, 测定 532nm 和 600nm 处的吸光度, 记为 A₅₃₂ 和 A₆₀₀, $\Delta A = A_{532} - A_{600}$ 。

MDA 含量计算:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 血清 (浆) 中 MDA 含量的计算:

$$\text{MDA 含量 (nmol/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} = 25.8 \times \Delta A$$

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

$$\text{MDA 含量 (nmol/ mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) = 25.8 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按照样品质量计算

$$\text{MDA 含量 (nmol/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 25.8 \times \Delta A \div W$$

(3) 按照细菌或细胞密度计算：

$$\text{MDA 含量 (nmol/10}^4\text{)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 0.0516 \times \Delta A$$

注： V 反总：反应体系总体积，4×10⁻⁴ L；ε：丙二醛摩尔消光系数，155×10³ L / mol /cm；d：比色皿光径，1cm；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。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 血清（浆）中MDA 含量的计算：

$$\text{MDA 含量 (nmol/ mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} = 51.6 \times \Delta A$$

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

$$\text{MDA 含量 (nmol/ mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) = 51.6 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按照样品质量计算

$$\text{MDA 含量 (nmol/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 51.6 \times \Delta A \div W$$

(3) 按照细菌或细胞密度计算：

$$\text{MDA 含量 (nmol/10}^4\text{)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 0.1032 \times \Delta A$$

注： V 反总：反应体系总体积，4×10⁻⁴ L；ε：丙二醛摩尔消光系数，155×10³ L / mol /cm；d：96 孔板光径，0.5cm；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。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))