

## 丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量测试盒说明书

(货号: G0110F 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°C保存	
工作液	液体 60mL×1 瓶	4°C避光保存	若有沉淀析出, 可 50°C水浴 10min, 溶解备用

### 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°C×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°C 或冰浴进行匀浆(使用各类常见电动匀浆器或超声破碎)。4°C 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°C。

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°C 水浴中保温 30min, 取出放冰上冷却, 25°C, 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 400μL), 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---样本提取液与工作液总反应液体积， $1 \times 10^{-3}$  L； d---比色皿光径，1cm；

$\epsilon$ ---MDA 摩尔消光系数， $155 \times 10^3$  L / mol /cm；

W---样本质量，g。

500---细胞数量，万。