



## 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（ $\mu\text{L}$ ）	300
样本（ $\mu\text{L}$ ）	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， $\Delta A=A532-A600$ 。

## 六、计算：

1、血清（浆）中 MDA 含量的计算：

丙二醛（MDA）含量(nmol/ mL)=[ $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9$ ]  $\div V_{\text{样}}$  = 43.01  $\times \Delta A$

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

丙二醛（MDA）含量 (nmol/ mg prot)=[ $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9$ ]  $\div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}})$  = 43.01  $\times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

（2）按照样品质量计算

丙二醛（MDA）含量(nmol/g 鲜重)=[ $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9$ ]  $\div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}})$  = 43.01  $\times \Delta A \div W$

（3）按照细菌或细胞密度计算：

丙二醛（MDA）含量 (nmol/10<sup>4</sup>)=[ $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9$ ]  $\div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}})$  = 0.086  $\times \Delta A$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，4 $\times 10^4$ L； $\epsilon$ ：丙二醛摩尔消光系数，155 $\times 10^3$  L / mol /cm； $d$ ：96孔板光径，0.6 cm； $10^9$ ：单位换算系数，1 mol= 10<sup>9</sup> nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； $C_{\text{pr}}$ ：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。