

丙二醛 (MDA) 检测试剂盒

(货号: SH3003 酶标法 96T)

一、产品简介

丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 是脂质过氧化的最终产物, 其含量可以反映细胞或组织受自由基攻击的严重程度, 是衡量氧化应激和膜系统受损程度的重要指标。

二、检测原理

丙二醛在高温和酸性条件下, 与硫代巴比妥酸 (Thiobarbituric Acid, TBA) 发生缩合反应, 生成红棕色产物, 该产物在 532 nm 波长处有特征吸收峰, 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。

三、试剂盒组分与规格

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
工作液	液体 30mL×1 瓶	4℃避光保存	若有沉淀析出, 50℃水浴至溶解。溶解后一个月内使用完毕可室温避光保存, 长期保存则需 4℃避光保存 (保存期间若有沉淀析出可再次 50℃水浴至溶解待用)。
标准品	液体 1ml×1 支	4℃保存	

四、所用到的仪器和用品

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96 孔板、匀浆器、冰和蒸馏水。

五、丙二醛 (MDA) 的测定

正式实验前务必选取 2-3 个预期差异较大的样本做测定, 了解本批样本情况, 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, 在 4℃ 12000g 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】若增加样本量, 可以按照组织质量 (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；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 1mL 提取液），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）；12000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

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酶标仪预热 30min 以上，同时水浴锅加热到 90-95℃。

②在 EP 管中依次加入：

试剂名称（ μ L）	样本管	标准品管
工作液	300	300
样本	200	
标准品		200

混匀后，在 90-95℃水浴中保温 30min（管口用封口膜封紧或者用重物压实），取出放冰上冷却，25℃，8000g 离心 10min，取 200 μ L 上清液至 96 孔板中，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 200 减至 25，并用生理盐水或蒸馏水补齐至 200），则改变后的加样量 V1 需重新带入公式计算。

六、结果计算

1、根据标准曲线，计算 ΔA 对应的标准品 1,1,3,3-四乙氧基丙烷（TEP）浓度 C(单位为 nmol/mL)。例如本说明书中的标准曲线为 $y=0.0703x-0.0282$ ，则 $C=(\Delta A+0.0282)/0.0703$ 。

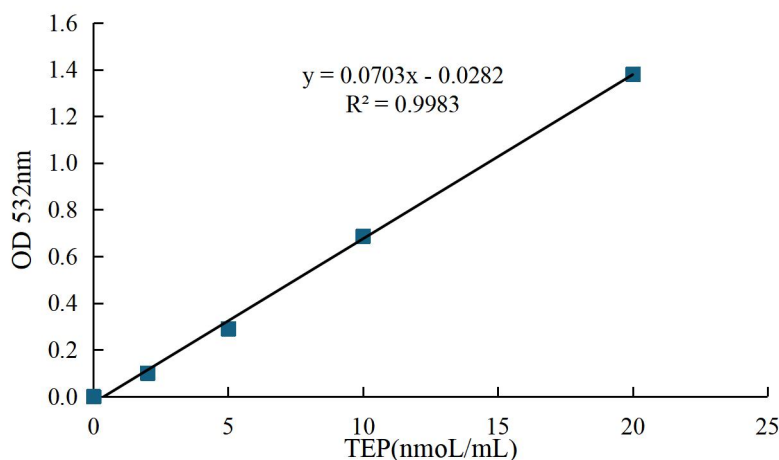


图1 丙二醛的标准曲线效果图，图中数据仅供参考。

2、按样本鲜重计算：

$$\text{MDA 含量 (nmol/g 鲜重)} = C \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times D$$

3、按细胞数量计算：

$$\text{MDA 含量 (nmol/10}^4\text{cell)} = C \times V1 \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

4、液体 MDA 含量

$$\text{MDA 含量 (nmol/mL)} = C$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.2mL；

500---细胞数量，万；

W---样本质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

七、标准曲线制作

1、标准品浓度：试剂盒所带的标准品母液浓度为 1mM。

2、将母液用无水乙醇稀释成以下浓度：0，5，10，20，50，100μM。也可以根据实际情况调整浓度。