

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， $\Delta A = A532 - A600$ 。

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: $V_{\text{反总}}$: 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 : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1 mL; $V_{\text{样总}}$: 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: $V_{\text{反总}}$: 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, 0.5cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1 mL; $V_{\text{样总}}$: 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](#))