丙二醛(MDA)试剂盒说明书

▶ 产品包装

货号	名称	规格
TS-X006	丙二醛（MDA）检测试剂盒微量法	100T/96S

▶ 指标介绍

丙二醛（MDA）是由于生物体官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。

▶ 试剂盒的组分与配制

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 110mL×1 瓶	4℃保存	
工作液	液体 60mL×1 瓶	4℃避光保存	1. 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 度避光保存； 2. 保存期间若有沉淀析出可再次 50℃水浴至溶解待用。

▶ 实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

▶ 指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

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℃×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 4ºC 或冰浴进行匀浆(使用各类常见电动匀浆器或超声破碎)。4ºC 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、检测步骤

① 打开分光光度计预热 30min（等仪器过自检程序亦可），蒸馏水调零，同时水浴锅加热到 90-95℃。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂组分（μL）	测定管
工作液	600
样本	400
混匀后，在 90-95℃水浴中保温 30min，取出放冰上冷却，25℃,12000rmp 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，ΔA= 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。

► 结果计算：

1、按样本鲜重计算：

MDA 含量(nmol/g 鲜重)=[ΔA÷(ε×d) ×V2×10^9]÷(W×V1÷V)= 16.1×ΔA÷W

2、按蛋白浓度计算：

MDA 含量(nmol/mg Prot)=[ΔA÷(ε×d) ×V2×10^9]÷(Cpr×V1÷V)= 16.1×ΔA÷Cpr

3、按液体体积：

MDA 含量(nmol/ mL)=[ΔA÷(ε×d) ×V2×10^9]÷V1=16.1×ΔA

4、按细胞数量计算：

MDA 含量(nmol/10^4 cell)=[ΔA÷(ε×d) ×V2×10^9]÷(500×V1÷V)=0.032×ΔA

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---样本加入量与工作液总反应液体积，1×10^{-3} L；　d---比色皿光径，1cm；

ε---MDA 摩尔消光系数，155×10^3 L / mol /cm；　　W---样本质量，g。

500---细胞数量，万。

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。