



细胞丙二醛(MDA)含量检测试剂盒说明书

规格：微量法 100 管/96 样

编号：TW55479

注意

正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定。

测定意义

氧自由基作用于脂质的不饱和脂肪酸，生成过氧化脂质；后者逐渐分解为一系列复杂的化合物，其中包括 MDA。通过检测 MDA 的水平即可检测脂质氧化的水平。

测定原理

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。

需自备的仪器和用品

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配置

裂解液：液体 25mL×1 瓶，4°C 保存；

试剂一：液体 30mL×1 瓶[]，4°C 保存；

临用前注意试剂一是否完全溶解，如未溶解，可以 40-60°C 加热，并振荡以促进溶解

样品处理与测定（按照步骤依次操作）



MDA 提取

1、细菌、细胞或组织样品的制备：

培养细胞：先收集细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细胞数量 1×10^6 个加入裂解液体积 0.2mL，混匀后放置在冰盒上裂解 10min；8000g 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

1、在 1.5mL EP 管中依次加入：

试剂名称(μL)	测定管
试剂一	300
样本	100
混匀，95°C水浴中保温 30min (盖紧，防止水分散失)，置于冰浴中冷却，10000g，25°C， 离心 10min	

2、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， $\Delta A = A532 - A600$

用 96 孔板测定的计算公式如下

1、细胞中 MDA 含量计算

(1) 按照蛋白浓度计算

$$\text{MDA 含量(nmol/ mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 109] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) = 51.6 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

(3) 按照细胞密度计算：

$$\text{MDA 含量(nmol/104)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 109] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}})$$

$$= 0.1032 \times \Delta A$$



V 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 样：加入样本体积，0.1 mL；V 样总：加入裂解液体积，0.2 mL；

Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞总数，100 万。

预实验的意义

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测，以免造成试剂盒和样本的浪费（比如低表达处理的样本）；
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程，尤其是初次使用生化试剂盒测定；
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适；
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题，以便于及时作出调整；
- 5、通过 3 - 5 组预实验，判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。