

丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHA2-C24	丙二醛 (MDA) 含量测定试剂盒	24T	常量法
AYHA2-C48		48T	

一、测定意义:

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 了解膜脂过氧化的程度, 以间接测定膜系统受损程度以及植物的抗逆性。

二、测定原理:

在酸性和高温条件下, MDA 可以与硫代巴比妥酸(TBA)反应生成红棕色的产物, 其最大吸收波长在 532nm, 根据其吸光度值变化, 可准确计算出样本中丙二醛的含量。

三、试剂组成:

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂一	液体 50mL×1 瓶	液体 80mL×1 瓶	室温保存
丙二醛标准品 (1mmol/L)	液体 1.5mL×1 瓶	液体 1.5mL×1 瓶	4℃ 保存

四、操作步骤:

样本前处理

- 1、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 0.05 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4℃ 离心 10 min, 取上清置冰上待测。
- 2、细菌、细胞: 按照细胞数量 10^4 个: 提取液体积 (mL) 500~1000:1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液) 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3 min), 5000 rpm, 4℃ 离心 10min, 取上清置冰上待测。
- 3、血清 (浆) 等液体: 直接测定。

测定步骤

1、测定前将试剂恢复至常温。

2、操作表:

a、MDA 标准品的稀释: 取适量标准品用蒸馏水稀释至 1、2、5、10、20、50 μ mol/L, 制作标准曲线。

b、操作步骤

	空白管	标准管 1	样本管
双蒸水 (mL)	0.3	-	-
丙二醛标准 (mL)	-	0.3	-
样本 (mL)	-	-	0.3

试剂一 (mL)	1.0	1.0	1.0
按照操作表将样本和试剂加入带盖的离心管中，混匀，于沸水浴上反应 20min，迅速冷却后，4000rpm/min 常温离心 10 分钟。空白管调零，取上清液测定 532nm 波长下的吸光度值。			

五、样本中丙二醛含量计算：

以 A532 吸光度值为横坐标，丙二醛浓度为纵坐标，拟合其直线方程 $y=kx+b$ ， y ： $\mu\text{mol/L}$ 。将测定吸光值代表标曲计算出提取液中 MDA 浓度 C_{MDA} 。

(1) 按照蛋白浓度计算

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol/mg prot}) = C_{\text{MDA}} \div \text{Cpr}$$

(2) 按照细菌或细胞数量计算

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol}/10^4\text{cell}) = C_{\text{MDA}} \times V_{\text{提取}} \div 500$$

(3) 按照重量计算

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol/g}) = \text{MDA 含量}(\text{nmol/g}) = \text{MDA 浓度} \times V_{\text{提取}} \div W$$

$V_{\text{提取}}$: 1mL

Cpr: 蛋白浓度

500: 细胞/细菌数量, 500 万

1 $\mu\text{mol/L}$: 1 nmol/mL

六、注意事项：

- 1、沸水浴时候，注意离心管的盖子一定需要盖紧。最好是使用带旋盖的管子。
- 2、试剂一会有沉淀析出，可以沸水浴加入，使其完全溶解。

附录 I 丙二醛-TBA 标准曲线制备

1、取适量丙二醛标准品 1mmol/L 用蒸馏水稀释 0、1、2.5、5、10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ ，按照操作表操作。

	空白管	标准管
双蒸水 (mL)	0.3	
丙二醛标准品 (mL)		0.3
试剂一 (mL)	1.0	1.0

按照操作表将样本和试剂加入带盖的离心管中，混匀，于沸水浴上反应 20min，迅速冷却后，4000rpm/min 常温离心 10 分钟。空白管调零，取上清液测定 532nm 波长下的吸光度值。

