

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-M48	丙二醛（MDA）含量测定试剂盒	48T	微量法
AYHA2-M96		96T	

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（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂一	液体 20mL×1 瓶	液体 40mL×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 10⁴ 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、50μmol/L，制作标准曲线。

b、操作步骤

	空白管	标准管	样本管
双蒸水（mL）	0.1	-	-
丙二醛标准（mL）	-	0.1	-
样本（mL）	-	-	0.1

试剂一 (mL)	0.3	0.3	0.3
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。取上清液 200μL 于 96 孔板中，532nm 波长下的测定各管吸光度值。			

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 ：μmol/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

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

(2) 按照细菌或细胞数量计算

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

(3) 按照重量计算

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

$V_{\text{提取}}$ ：1mL

C_{pr} ：蛋白浓度

500：细胞/细菌数量，500 万

1 μmol/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。