丙二醛(malondialdehyde，MDA)含量试剂盒（微板法）

货号： BRK0001

【产品简介】

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。

【实验原理】

- 过氧化脂质降解产物中的丙二醛（MDA）在高温及酸性环境下可与硫代巴比妥酸（TBA）反应产生红色物质在 532nm 处有最大吸收峰。本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法。
- 检测范围：2.5-40μmol/L 灵敏度：2.5μmol/L。

【产品组成】

试剂名称	规格（96T）	储存条件	有效期
试剂一	4mL×1 瓶	2-8℃	6 个月
试剂二	60mL×1 瓶	2-8℃，避光	
试剂三	30mL×1 瓶	2-8℃	
标准品（50μmol/L）	5mL×1 瓶	2-8℃，避光	

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、无水乙醇、水浴锅、PBS（0.01M，pH7.4）或生理盐水（0.9%NaCl）

【使用方法】

➢ **样本处理及要求**

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：2.5-40μmol/L，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为 PBS（0.01M，pH7.4）生理盐水（0.9%NaCl）。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **血清（浆）等液体样本**：直接检测。若浑浊，离心后取上清测定。
4. **组织样本**：按照组织质量（g）：PBS（0.01M，pH7.4）体积(mL)为 1:5~10 的比例（例如约 0.1g 组织，加入 1mLPBS（0.01M，pH7.4）或生理盐水（0.9%NaCl））进行匀浆，匀浆后，4℃，10000 g 离心 10min，取上清置冰上待测。如需检测蛋白浓度，可留取部分上清用于蛋白浓度测定。
5. **细菌或细胞样本**：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌/细胞数量（104）：PBS（0.01M，pH7.4）体积（mL）为 500~1000：1 的比例(建议按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL、PBS（0.01M，pH7.4）或生理盐水（0.9%NaCl）)，超声波破碎细菌或细胞（功率 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），10000 g，离心 10min，取上清待测。

➢ **检测前准备工作**

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. 试剂一低温时会凝固，检测前可 37℃加热以加速溶解，直至透明方可使用。
3. 试剂二如有析出，沸水浴加热溶解，期间可震荡几次加快溶解。
4. **标准工作液配制**：50μmol/L 标准品按下表用对应量的无水乙醇稀释成以下浓度的标准品工作液：0μmol/L、5μmol/L、10μmol/L、15μmol/L、20μmol/L、25μmol/L、30μmol/L、40μmol/L。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）。

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μmol/L)	0	5	10	15	20	25	30	40
50μmol/L 标准品(μL)	0	50	100	150	200	250	300	400
无水乙醇(μL)	500	450	400	350	300	250	200	100

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准管加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用无水乙醇稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

- **操作步骤**

1. **酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 532nm。**
2. **加热水浴锅至 95℃以上。**
3. **样本测定（在 EP 管中依次加入）：**

试剂名称(μL)	标准管	测定管	对照管（选做）
样本		40	40
不同浓度标准品	40		
试剂一	40	40	40
试剂二	600	600	
试剂三			600

混匀后，在 95°C 或沸水浴中保温 40min（注意防止爆盖，可使用旋盖 EP 管拧紧），取出放冰上冷却，25℃，10000 g 离心 10min，取上清液 250μL 至 96 孔板中，在 532nm 处读取各孔 OD 值。

注：

1. 水浴反应中，要注意防止爆盖（沸水浴 EP 管容易爆开，样本溅出或者蒸发，会导致检测结果不准确），可采用以下方式：①使用较大的螺旋盖的 EP 管。②不直接盖紧 EP 管，用保鲜膜封紧试管口并在保鲜膜上扎气孔。③使用防爆夹。
2. 若样本没有特殊颜色、浊度等因素，则对照管可以不测，用空白管来代替对照管。若样本有特殊颜色需要做对照管，本试剂盒 48T 检测 24 个样本，96T 检测 48 个样本。

- **实验结果计算**

1. 标准品拟合曲线：y=ax+b。

2. 液体样本

样本按照体积计算公式：MDA(μmol/L)= (△A-b)÷a×N

按样本质量计算公式：MDA(μmol/kg)=(△A-b)÷a×N÷W

按蛋白浓度计算公式：MDA(μmol/gprot)=(△A-b)÷a×N÷Cpr

按细胞数量计算公式：MDA(μmol/104)=(△A-b)÷a÷500÷V×N

注：

△A：样本孔 OD 值-空白孔 OD 值（标准浓度为 0 时的 OD 值）

y：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值（标准浓度为 0 时的 OD 值）

x：标准品的浓度

N：样本稀释倍数

a：标曲的斜率

W：样品质量，g

b：标曲的截距

Cpr：样本的蛋白浓度，mg/mL

V：加入提取液体积，mL

500：细胞或细菌数量，万

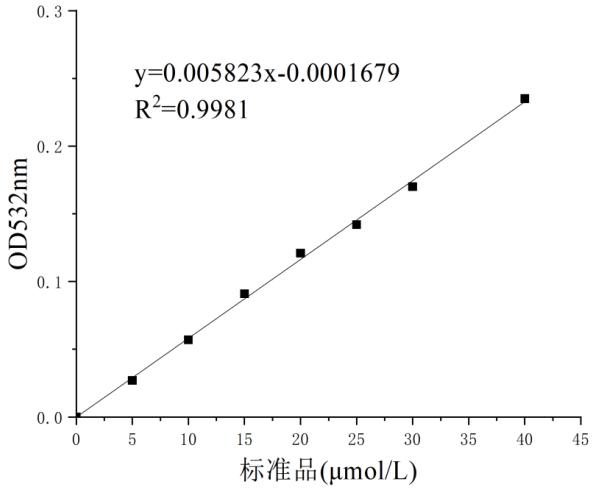
➢ **参考样本数据：**

以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
人血清	不稀释	10.55μmol/L
大鼠肝脏(10%匀浆)	不稀释	104.87μmol/kg
小鼠肝脏(10%匀浆)	不稀释	92.91μmol/kg
生菜(10%匀浆)	不稀释	20.18μmol/kg

➢ **参考曲线：**

y=0.005823x-0.0001679，R2=0.9981，x 是标准品的浓度(μmol/L)，y 是△A。



注意：本图仅供参考，应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

【注意事项】

1. 本产品仅限科研使用，不用于临床诊断或治疗。
2. 不能使用过期产品，不同货号和批号组分不得混用。
3. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
4. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
5. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
6. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

【企业质量体系】

上海中乔新舟生物有限公司已取得 ISO 9001、ISO 13485 医疗器械质量管理体系认证，全流程质量管控合规可靠。

【文献奖励】

科研论文引用中乔新舟产品并成功见刊，可享文献奖励。

- 发表[中文论文]请标注：丙二醛(malondialdehyde，MDA)含量试剂盒 (BRK0001)由**上海中乔新舟生物科技有限公司**提供;
- 发表[英文论文]请标注：malondialdehyde (MDA) Content kit (BRK0001)were kindly provided by **Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd.”或“ZQXZbio”**

获取详情方式

- 关注【中乔新舟】公众号，在菜单栏点击**快速查询**，选择**文献奖励**，即可查看文献奖励详细规则;
- 咨询官方客服，获取文献奖励详细规则。****活动最终解释权归中乔新舟生物所有****

专注于细胞培养

