

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

**产品货号：GBQ159**

**产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)**

**检测仪器：荧光酶标仪 (激发波长 520 nm，发射波长 550 nm)**

## **Elabscience®硫代巴比妥酸反应物 (TBARS)**

### **荧光法测试盒**

### **Thiobarbituric Acid Reactants (TBARS)**

### **Fluorometric Assay Kit**

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：[biochemical@elabscience.cn](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

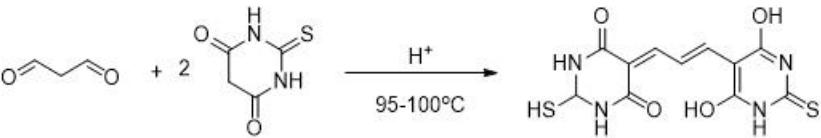
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、动物组织、细胞等样本中的 TBARS 含量。

检测原理

TBARS（Thiobarbituric acid reactive substances）主要指丙二醛，可以和 TBA 在高温和酸性条件下反应形成的粉红色的化合物，其浓度与样本中 TBARS 的浓度具有线性关系，通过测定激发波长 520 nm，发射波长 550 nm 下荧光值可以间接计算 TBARS 的浓度。



本试剂盒在检测组织和细胞样本时,需要测定总蛋白浓度,推荐使用 BCA 法（货号：GBQ162）

提供试剂和物品

| 编号                 | 名称                                    | 规格 1<br>(Size 1)(48 T) | 规格 2<br>(Size 2)(96 T) | 保存方式<br>(Storage) |
|--------------------|---------------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------|
| 试剂一<br>(Reagent 1) | 澄清剂<br>(Clarificant)                  | 12 mL×1 瓶              | 12 mL×1 瓶              | 2-8℃<br>保存 6 个月   |
| 试剂二<br>(Reagent 2) | 酸试剂<br>(Acid Reagent)                 | 6 mL×1 瓶               | 12 mL×1 瓶              | 2-8℃<br>保存 6 个月   |
| 试剂三<br>(Reagent 3) | TBA 试剂<br>(TBA Reagent)               | 粉剂×1 瓶                 | 粉剂×1 瓶                 | 2-8℃避光<br>保存 6 个月 |
| 试剂四<br>(Reagent 4) | 20 μmol/L 标准品<br>(20 μmol/L Standard) | 5 mL×1 瓶               | 5 mL×1 瓶               | 2-8℃<br>保存 6 个月   |
|                    | 96 孔黑色酶标板                             | 96 孔×1 块               |                        | 无要求               |
|                    | 96 孔覆膜                                | 2 张                    |                        |                   |

|  |         |     |  |
|--|---------|-----|--|
|  | 样本位置标记表 | 1 张 |  |
|--|---------|-----|--|

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，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。

## 所需自备物品

**仪器：**荧光酶标仪 ( $\lambda_{\text{ex/em}} = 520 \text{ nm}/550 \text{ nm}$ )

**试剂：**冰乙酸、双蒸水或去离子水、生理盐水 (0.9% NaCl) 或 PBS (0.01 M, pH 7.4)

## 试剂准备

- ① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。
- ② 试剂一2-8℃存放时会凝固，使用前37℃加热，直到透明液体方可使用。
- ③ 试剂二应用液的配制：

按 1.2 mL 试剂二：34 mL 双蒸水比例混匀即可，现配现用，未用完的试剂 2-8℃可保存 1 天。

- ④ 试剂三应用液配制：

将粉剂加入到 60 mL 90-100℃的双蒸水中，搅拌溶解，加冰乙酸 60 mL，混匀，冷却至室温，2-8℃避光保存 1 个月。（冰乙酸自备）。

- ⑤ 显色剂的配制：

按试剂二应用液：试剂三应用液=3:1 的比例混匀即可，现配现用，24 h 之内用完。

- ⑥ 不同浓度标准品的稀释：

| 编号                                        | ①    | ②   | ③   | ④   | ⑤   | ⑥   | ⑦   | ⑧   |
|-------------------------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 标准品浓度( $\mu\text{mol/L}$ )                | 0    | 0.5 | 1   | 2   | 4   | 6   | 8   | 10  |
| 20 $\mu\text{mol/L}$ 标准品( $\mu\text{L}$ ) | 0    | 25  | 50  | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 |
| 双蒸水( $\mu\text{L}$ )                      | 1000 | 975 | 950 | 900 | 800 | 700 | 600 | 500 |

# 样本准备

## ① 样本处理

血清血浆样本：直接进行测定。

组织样本：取 0.020-1 g 新鲜组织块，用 2-8℃的 PBS（0.01 M，pH 7.4）漂洗，去除血液，滤纸吸干，称重，放入匀浆容器中，按照重量（g）：体积（mL）=1: 9 的比例加入 PBS（0.01 M，pH 7.4），进行匀浆，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留一部分上清用于蛋白测定。

细胞样本：收集细胞，按照 10<sup>6</sup> 个细胞加入 300 μL 匀浆介质的比例加入 PBS（0.01 M，pH 7.4），进行机械匀浆，充分破碎（无明显的细胞沉淀，可在显微镜下观察），4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留一部分上清用于蛋白测定。

## ② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.09-10 μmol/L，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

| 样本       | 稀释倍数 | 样本       | 稀释倍数 |
|----------|------|----------|------|
| 人血清      | 不稀释  | 人血浆      | 不稀释  |
| 大鼠血清     | 不稀释  | 小鼠血清     | 不稀释  |
| 10%小鼠脑匀浆 | 不稀释  | 10%大鼠肝匀浆 | 不稀释  |

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

## 实验关键点

① 水浴反应 60 min 时温度要控制在 95-100℃。

② 水浴反应中，不可直接盖紧 EP 管或玻璃试管盖子，应用保鲜膜封紧试管口并在保鲜膜上扎气孔。

操作步骤

- ① 标准管：取 0.1 mL 不同浓度的标准品，分别加入到带有标准编号 10 mL 玻璃试管中；  
    样本管：取 0.1 mL 待测样本，加入到 10 mL 玻璃试管中。
- ② 向步骤①中的各管加入 0.1 mL 试剂一。
- ③ 向步骤②中各管加入 4 mL 的显色剂。
- ④ 试管口用保鲜膜扎紧，充分混匀，并在保鲜膜上扎一个小孔，100℃ 水浴 1 h。
- ⑥ 流水冷却至室温，1600 × g 离心 10 min。
- ⑦ 用微量移液器取上清液 0.25 mL 到酶标板。（不能将沉淀加入酶标板中）
- ⑧ 酶标仪上测定 520 nm 激发波长和 550 nm 发射波长的荧光值。

操作表

|                                                                                                                              | 标准管 | 测定管 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 不同浓度的标准品(mL)                                                                                                                 | 0.1 |     |
| 待测样本(mL)                                                                                                                     |     | 0.1 |
| 试剂一(mL)                                                                                                                      | 0.1 | 0.1 |
| 显色剂(mL)                                                                                                                      | 4   | 4   |
| 混匀，试管口用保鲜膜扎紧，并在保鲜膜上扎一小孔，100℃以上水浴 1 h，流水冷却至室温，1600 × g 离心 10 min。用微量移液器取上清液 0.25 mL 到酶标板，酶标仪上测定 520 nm 激发波长和 550 nm 发射波长的荧光值。 |     |     |

本试剂盒检测组织或细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 GBQ162)进行测定。

## 结果计算

标准品拟合曲线:  $y = ax + b$

血清（浆）TBARS 含量的计算公式:

$$\text{TABRS} \left( \mu\text{mol/L} \right) = (\Delta F - b) \div a \times f$$

组织、细胞中 TBARS 含量的计算公式:

$$\text{TABRS} \left( \mu\text{mol/gprot} \right) = (\Delta F - b) \div a \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解:

y: 标准品在  $\lambda_{\text{ex/em}} = 520 \text{ nm}/550 \text{ nm}$  相对荧光值（标准品荧光值-空白荧光值）

x: 标准品的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

$\Delta F$ : 绝对荧光值（样本测定荧光值-空白荧光值）

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

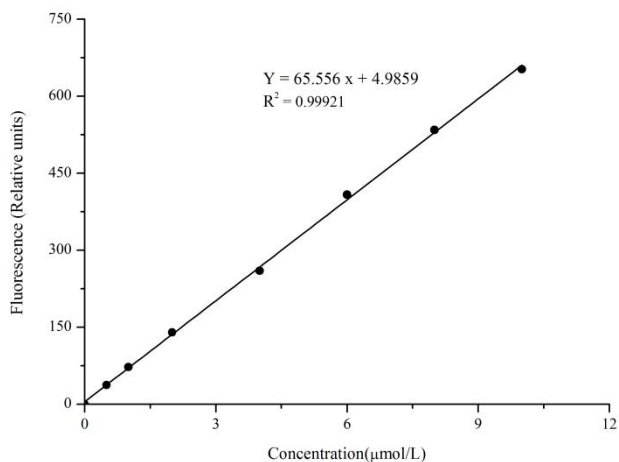
$C_{\text{pr}}$ : 样本的蛋白浓度（gprot/L）

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

|       |                           |       |       |
|-------|---------------------------|-------|-------|
| 检测范围  | 0.09-10 $\mu\text{mol/L}$ | 平均批间差 | 2.8 % |
| 灵敏度   | 0.09 $\mu\text{mol/L}$    | 平均批内差 | 1.7 % |
| 平均回收率 | 95.7 %                    |       |       |

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)



## 附录2 实例分析

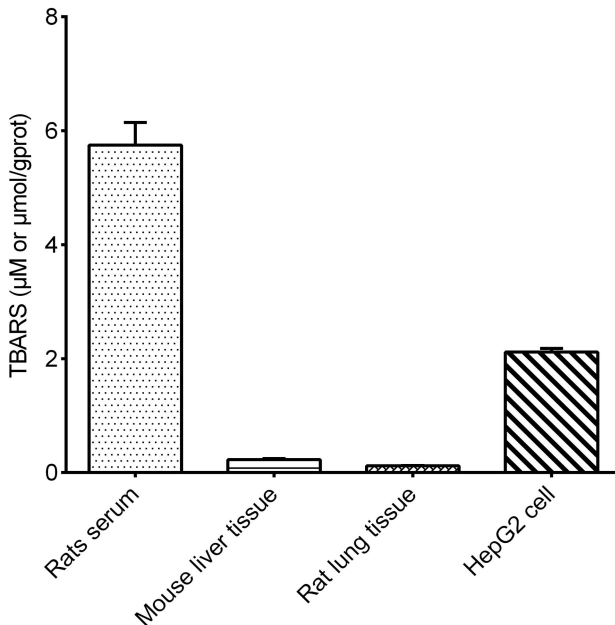
例如检测小鼠肝脏组织(数据仅供参考):

用PBS (0.01 M, pH 7.4) 将10%小鼠肝匀浆稀释10倍, 取0.1 mL 稀释后的样本, 按操作表操作, 结果如下:

标准曲线:  $y = 63.104x + 13.471$ , 测定管平均荧光值为70.527, 空白管平均荧光值为33.423, 同时测得匀浆蛋白含量为16.56 gprot/L计算结果为:

$$\text{TBARS 含量} = (70.527 - 33.423 - 13.471) \div 63.104 \times 10 \div 16.56 = 0.23 \mu\text{mol/gprot} \quad (\mu\text{mol/gprot})$$

按照说明书操作, 测定大鼠血清(稀释10倍, 加样量0.1 mL)、小鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量16.56 g/L, 稀释10倍, 加样量0.1 mL)、大鼠肺组织((10%组织匀浆的蛋白含量5.04g/L, 稀释2倍, 加样量0.1 mL)及HepG2(蛋白含量6.09 g/L, 加样量0.1 mL)中的TBARS含量(如下图):



### 附录3 问题答疑

| 问题          | 可能原因           | 建议解决方案          |
|-------------|----------------|-----------------|
| 测值不稳定，复孔差异大 | 微量移液器使用不熟练     | 小心加样，避免产生气泡     |
|             | 未严格按照说明书操作     | 严格按照说明书操作       |
| 样本和标准品显色很低  | 水浴时间太短         | 保证充足的水浴时间       |
|             | 水浴温度较低         | 严格控制水浴温度95-100℃ |
| 样本测不出值      | 样本稀释倍数太大       | 选择合适稀释倍数，重新检测   |
|             | 样本含量太低，低于灵敏度   | 增加取样量或者浓缩样本     |
|             | 样本保存时间过长或者保存不当 | 取新鲜样本，重新检测      |

### 声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。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。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

## 附录4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675
11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on

monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573

12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C,Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1  $\alpha$  -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*.2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell

Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113

22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- $\kappa$ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- $\beta$  Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508