（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K025-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪（530-540 nm）

Elabscience®丙二醛（MDA）比色法测试盒（TBA 法）

Malondialdehyde (MDA) Colorimetric Assay Kit (TBA Method)

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

网址：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。

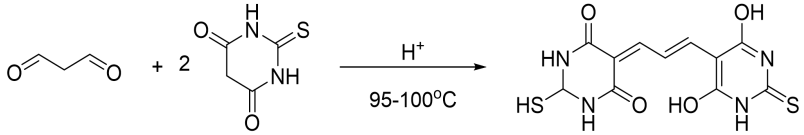
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、动物组织等样本中的 MDA 含量。

检测原理

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）反应产生红棕色产物 3,5,5'-三甲基恶唑 2,4-二酮（三甲川），该物质在 532nm 处有最大吸收峰。



提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	澄清剂 (Clarificant)	3 mL×1 瓶	3 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酸试剂 (Acid Reagent)	2 mL×1 瓶	4 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	50 μmol/L 标准品 (50 μmol/L Standard)	5 mL×1 瓶	5 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	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：酶标仪（530-540 nm）、涡旋混匀仪、磁力搅拌器、微量移液器（1000 μL，200 μL，100 μL，10 μL）、恒温水浴锅、离心机、烧杯（25 mL）、量筒（50 mL）。

耗材：枪头（1000 μL，200 μL，10 μL）、EP 管（1.5 mL，2 mL）。

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）、冰乙酸、无水乙醇。

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14 mL 90-100℃的双蒸水中，搅拌溶解，加冰乙酸14 mL，混匀，冷却至室温，避光2-8℃保存1个月。（冰乙酸自备）。

⑤ 50%乙酸配制：

取8 mL冰乙酸缓慢加入至8 mL双蒸水中，混匀，静置至室温待用（注：冰乙酸为高浓度酸，稀释过程需要缓慢加入）。

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(μmol/L)	**0**	**5**	**10**	**15**	**20**	**25**	**30**	**40**
50 μmol/L 标准品(μL)	0	10	20	30	40	50	60	80
无水乙醇（μL)	100	90	80	70	60	50	40	20

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：可直接测定。

组织样本：常规匀浆处理(匀浆介质为 PBS（0.01 M，pH 7.4）)。匀浆后，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

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：2.92-40 μmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%大鼠心匀浆	不稀释
人血浆	不稀释	10%大鼠肝匀浆	不稀释
大鼠血清	不稀释	10%大鼠脾匀浆	不稀释
大鼠血浆	不稀释	10%大鼠肺匀浆	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%大鼠肾匀浆	不稀释
小鼠血浆	不稀释	10%大鼠脑匀浆	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 40 min 时温度要控制在 95-100℃。

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

③ 一般情况下，若样本不存在溶血、脂血现象，则对照管可以不测，用空白管(标准品浓度为零)代替对照管。

操作步骤

① 标准管：取 0.02 mL 8 个不同浓度的标准品，分别加入到带有标准编号 1.5 mL EP 管中。

样本管：取 0.02 mL 待测样本，加入到 1.5 mL EP 管中。

对照管：取 0.02 mL 待测样本，加入到 1.5 mL EP 管中。

② 向步骤①中的各管加入 0.02 mL 试剂一。

③ 向步骤②中的各管加入 0.6 mL 试剂二应用液。

④ 向步骤③中的标准管及测定管中加入 0.2 mL 试剂三应用液，对照管中加入 0.2 mL 50%乙酸。

⑤ EP 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 40 min。

⑥ 流水冷却至室温，9569 × 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 532 nm 处的 OD 值。

操作表

	标准管	**测定管**	**对照管**
不同浓度的标准品(mL)	0.02		
待测样本(mL)		0.02	0.02
试剂一(mL)	0.02	0.02	0.02
试剂二应用液(mL)	0.6	0.6	0.6
试剂三应用液(mL)	0.2	0.2	
50%乙酸（mL）			0.2
混匀，EP 管口用保鲜膜扎紧，并在保鲜膜上扎一小孔，100℃水浴 40 min，流水冷却至室温，9569 × 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 532 nm 处的 OD 值。			

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

标准品拟合曲线：y = ax + b

血清（浆）MDA 含量的计算公式：

$$\underset{(\mu mol/L)}{MDA} = (\Delta A - b) \div a \times f$$

组织中 MDA 含量的计算公式：

$$\underset{(\mu mol/gprot)}{MDA} = (\Delta A - b) \div a \times f \div C_{pr}$$

注解：

y：标准品 OD 值-空白 OD 值

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

C_{pr}：样本的蛋白浓度（gprot/L）

ΔA：样本 OD 值-空白 OD 值

（备注：针对溶血、脂血样本ΔA：样本 OD 值-样本对照 OD 值）

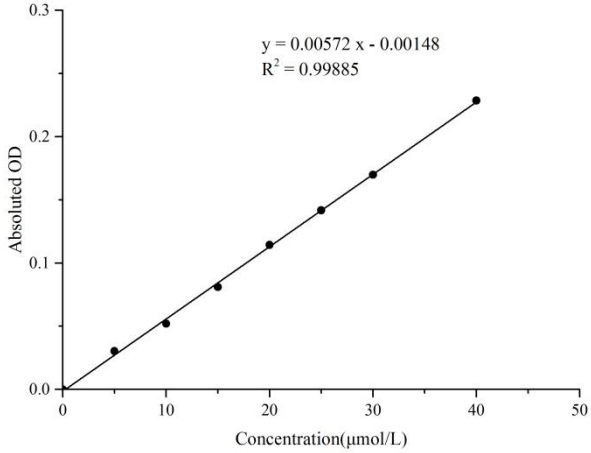
附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	2.92-40 μmol/L	**平均批间差**	7.2 %
灵敏度	1.13 μmol/L	**平均批内差**	4.1 %
平均回收率	97.8 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

标准曲线(数据仅供参考):



附录2 实例分析

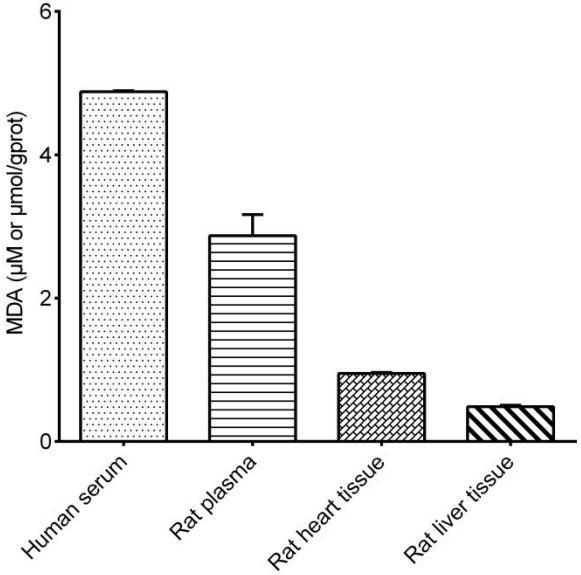
例如检测大鼠肝脏组织(数据仅供参考):

取0.020 mL 10%的大鼠肝匀浆，按操作表操作，结果如下：

标准曲线：y = 0.0057 x - 0.0015，空白管平均OD值为0.041，测定管平均OD值为0.075，同时测得匀浆蛋白含量为12.89 gprot/L，计算结果为：

MDA 含量（μmol/gprot） = (0.075 - 0.041 + 0.0015) ÷ 0.0057 ÷ 12.89 = 0.48 μmol/gprot

按说明书操作，测定人血清（加样量0.02 mL）、大鼠血浆（加样量0.02 mL）、大鼠心组织（10%组织匀浆的蛋白含量6.21 gprot/L，加样量0.02 mL）及大鼠肝脏组织（10%组织匀浆的蛋白含量12.89 gprot/L，加样量0.02 mL）中的MDA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，避免液体溅到其它测样管中
	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	选择合适的稀释倍数，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保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>40 μmol/L	样本浓度太高	适当稀释样本，重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

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同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. Liu Y , Wang L , Liu Z ,et al.Durable Immunomodulatory Nanofiber Niche for the Functional Remodeling of Cardiovascular Tissue[J].ACS Nano, 2024, 18(1):21.DOI:10.1021/acsnano.3c09692.

2. Liang L , Peng W , Qin A ,et al.Intracellularly Synthesized Artificial Exosome Treats Acute Lung Injury[J].ACS Nano, 2024, 18(32):15.DOI:10.1021/acsnano.4c01900.

3. Wang Y, Liang X, Andrikopoulos N, et al. Remediation of Metal Oxide Nanotoxicity with a Functional Amyloid[J]. Advanced Science, 2024, 11(23): 2310314.

4. Xu W , B Y Y ,Yan TianCheng ChengYing ChenLianjie ZengYuan YuanDandan LiLiping ZhengTao Luo.Oral exposure to polystyrene nanoplastics reduced male fertility and even caused male infertility by inducing testicular and sperm toxicities in mice[J].Journal of Hazardous Materials, 2023, 454(Jul.15):131470.1-131470.15.DOI:10.1016/j.jhazmat.2023.131470.

5. Liu Z, Bian Q, Wang D. Exposure to 6-PPD quinone causes ferroptosis activation associated with induction of reproductive toxicity in Caenorhabditis elegans[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 471: 134356.

6. Zhao Y , Yin W , Yang Z ,et al.Nanotechnology-enabled M2 macrophage polarization and ferroptosis inhibition for targeted inflammatory bowel disease treatment[J].Journal of Controlled Release, 2024, 367:339-353.DOI:10.1016/j.jconrel.2024.01.051.