

(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)比色法试剂盒(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。

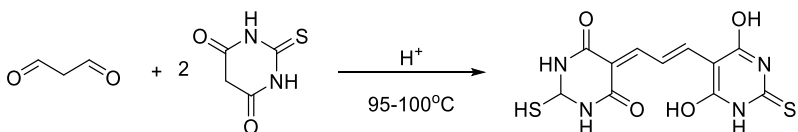
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

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℃ 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℃ 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℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	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 $^{\circ}\text{C}$ 存放时会凝固，使用前37 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 可保存1天。

④ 试剂三应用液配制：

将粉剂加入到14 mL 90-100 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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($\mu\text{mol/L}$)	0	5	10	15	20	25	30	40
50 $\mu\text{mol/L}$ 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°C，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°C。

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°C 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°C 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：

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

组织中 MDA 含量的计算公式：

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

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)

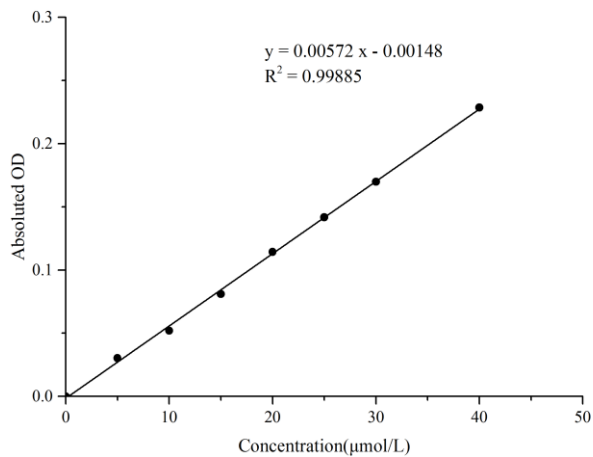
附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	2.92-40 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	7.2 %
灵敏度	1.13 $\mu\text{mol/L}$	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

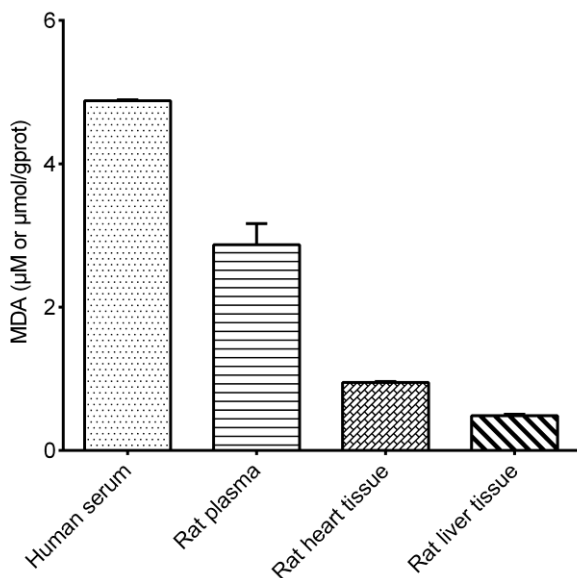
例如检测大鼠肝脏组织(数据仅供参考):

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: $y = 0.0057x - 0.0015$, 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:

$$\text{MDA 含量} (\mu\text{mol/gprot}) = (0.075 - 0.041 + 0.0015) \div 0.0057 \div 12.89 = 0.48 \mu\text{mol/gprot}$$

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°C
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 $\mu\text{mol/L}$	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. 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 H₂O₂ 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 α -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- κ 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- β 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