（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-S

产品规格：50 assays(48 samples)/ 100 assays(96 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计（532 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

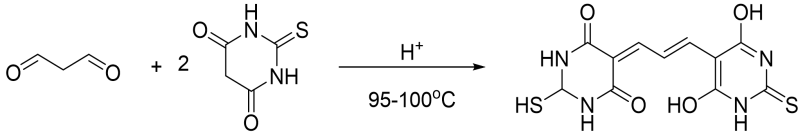
具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

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。



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）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1(Size 1)（50 assays）	规格 2(Size 2)（100 assays）	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	澄清剂 (Clarificant)	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酸试剂 (Acid Reagent)	12 mL×1 瓶	12 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×2 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	10 nmol/mL 标准品 (10 nmol/mL Standard)	5 mL×1 瓶	5 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月

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：紫外-可见光分光光度计（532 nm）、涡旋混匀仪、磁力搅拌器、微量移液器（1000 μL，200 μL，100 μL，10 μL）、恒温水浴箱、离心机、烧杯（500 mL，250 mL）、量筒（100 mL）。

耗材：枪头（1000 μL，200 μL，10 μL ）、EP 管（10 mL）、玻璃试管（10 mL）、吸水纸、擦镜纸、磁力搅拌子、保鲜膜。

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：

按试剂二：双蒸水为1.2: 34的体积比混匀即可。

④ 试剂三应用液配制：

取试剂三一瓶加入到30 mL 90-100℃的双蒸水中，搅拌溶解，加入冰乙酸30 mL，混匀，冷却到室温，避光2-8℃保存1个月。（冰乙酸自备）。

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：0.38-133.33 nmol/mL，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 空白管：取 A mL 无水乙醇，加入 10 mL 玻璃试管中；
标准管：取 A mL10 nmol/mL 标准品，加入 10 mL 玻璃试管中；
测定管和对照管：各取 A mL 待测样本，加入 10 mL 玻璃试管中。

② 向步骤①中的各管加入 A mL 试剂一。

③ 向步骤②中的各管加入 3.0 mL 试剂二应用液。

④ 向步骤③中的空白、标准、测定管各加入 1.0 mL 试剂三应用液，对照管中加入 1.0 mL 50%冰乙酸。

⑤ 充分混匀后，试管口用保鲜膜扎紧，并在保鲜膜上扎一个小孔，95℃以上水浴 40 min。

⑥ 取出后流水冷却至室温，3100 × g 离心 10 min。

⑦ 用微量移液器取上清液 3 mL 加入到 1 cm 光径石英比色皿中，波长 532 nm，双蒸水调零，测其吸光度。（不能将沉淀加入比色皿中）

操作表

	空白管	标准管	测定管	对照管
无水乙醇（mL）	A			
10 nmol/mL 标准品(mL)		A		
待测样本(mL)			A	A
试剂一(mL)	A	A	A	A
试剂二应用液(mL)	3.0	3.0	3.0	3.0
试剂三应用液(mL)	1.0	1.0	1.0	
50%冰醋酸（mL）				1.0
混匀，试管口用保鲜膜扎紧，并在保鲜膜上扎一小孔，95℃以上水浴 40 min，流水冷却至室温，3100 × g 离心 10 min。用微量移液器取上清液 3 mL 加入到 1 cm 光径石英比色皿，波长 532 nm，双蒸水调零，测其吸光度。				

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)。

注：① A 表示待测样本的量、无水乙醇的量、标准品的量、试剂一的量，四者均相等。

② 一般情况下，标准品管、空白管每批次只需做 1-2 只，若样本不存在溶血、脂血现象，则对照管可以不测，用空白管代替对照管。

③ 参考加样量 A：血清（浆）取 0.1-0.2 mL；低密度脂蛋白悬液取 0.1-0.2 mL；肝组织、心肌、肌肉组织等，5%或 10%匀浆取 0.1-0.2 mL。

结果计算

血清（浆）MDA 含量的计算公式：

$$\underset{(nmol/mL)}{MDA} = = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f$$

组织中 MDA 含量的计算公式：

$$\underset{(nmol/mgprot)}{MDA} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f \div C_{pr}$$

注解：

ΔA_1：测定 OD 值-对照 OD 值

ΔA_2：标准 OD 值-空白 OD 值

c：标准品浓度（10 nmol/mL）

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr}：样本蛋白浓度（mgprot/mL）

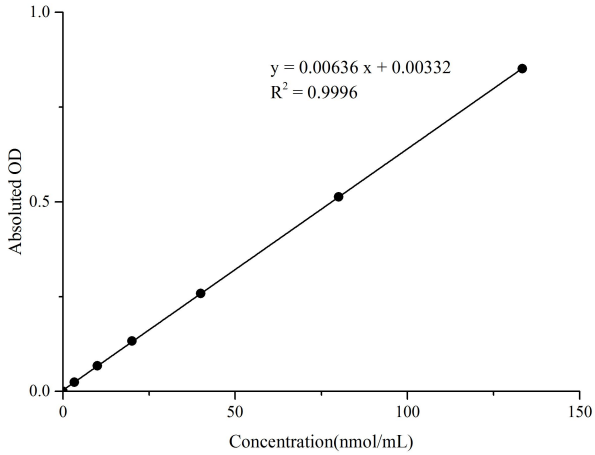
附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.38-133.33 nmol/mL	**平均批间差**	8.0 %
灵敏度	0.38 nmol/mL	**平均批内差**	4.9 %
平均回收率	101 %		

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

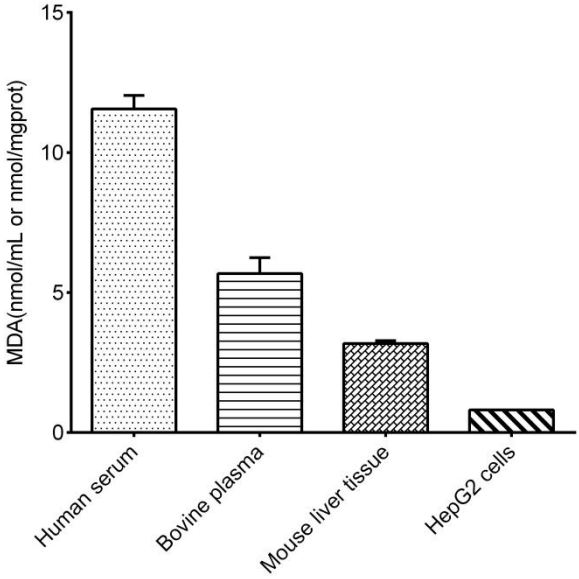
例如检测人血清(数据仅供参考)：

取0.1 mL人血清，按操作表操作，结果如下：

空白管平均OD值为0.002，标准管平均OD值为0.060，测定管平均OD值为0.069，计算结果为：

$$\text{MDA 含量（nmol/mL）} = \frac{0.069 - 0.002}{0.060 - 0.002} \times 10 = 11.55\ \text{nmol/mL}$$

按说明书操作，测定人血清（加样量0.1 mL）、牛血浆（加样量0.1 mL）、小鼠肝脏组织（5%组织匀浆的蛋白含量5.61 mg/mL，加样量0.1 mL）及HepG2细胞（蛋白含量1.11 mg/mL，加样量0.2 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>133.33 nmol/mL	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. Feng R, Chen L, Yang M. Aluminum-induced oxidative stress promotes changes in the structure of the gut microbiota and liver deficiency[J]. Heliyon, 2024, 10(16).

2. Chen Z, Liu T, Luan J. Oral Administration of Lutein Improves Fat Graft Survival by Alleviating Oxidative Stress in Mice[J]. Aesthetic Surgery Journal, 2024, 44(12): NP906-NP921.

3. Al-Medhtiy M H, Mohammed M T, M. Raouf M M H, et al. A triterpenoid (corosolic acid) ameliorated AOM-mediated aberrant crypt foci in rats: modulation of Bax/PCNA, antioxidant and inflammatory mechanisms[J]. Journal of Molecular Histology, 2024, 55(5): 765-783.

4. Wang T, Yu L, Zheng J, et al. Berberine inhibits ferroptosis and stabilizes atherosclerotic plaque through NRF2/SLC7A11/GPX4 pathway[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2024, 30(10): 906-916.

5. Wang H, Li W. Puerarin alleviates the high glucose-induced oxidative stress via the RAGE/PKC/NOX4 axis in renal mesangial cells[J]. The Journal of Toxicological Sciences, 2024, 49(11): 497-507.

6. Baldea I, Moldovan R, Nagy A L, et al. Ketoconazole-Fumaric Acid Pharmaceutical Cocrystal: From Formulation Design for Bioavailability Improvement to Biocompatibility Testing and Antifungal Efficacy Evaluation[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(24): 13346.