

(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。

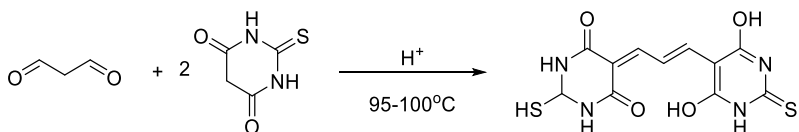
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

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。



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℃ 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℃ 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℃ 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 $-2-8^{\circ}\text{C}$ 存放时会凝固，使用前 37°C 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 $90-100^{\circ}\text{C}$ 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 $2-8^{\circ}\text{C}$ 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°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：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°C。

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 mL 10 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°C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：

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

组织中 MDA 含量的计算公式：

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

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）

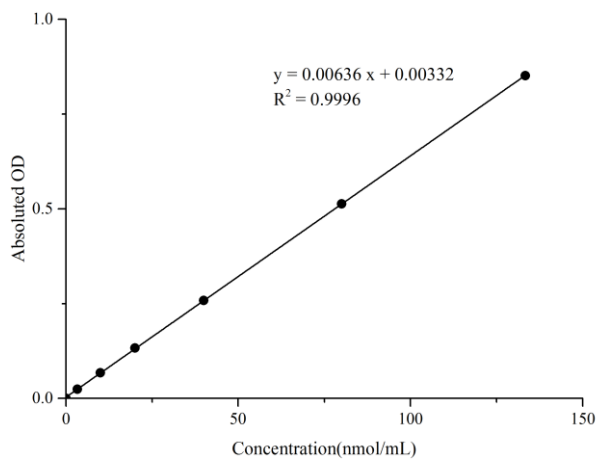
附录1 关键数据

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):

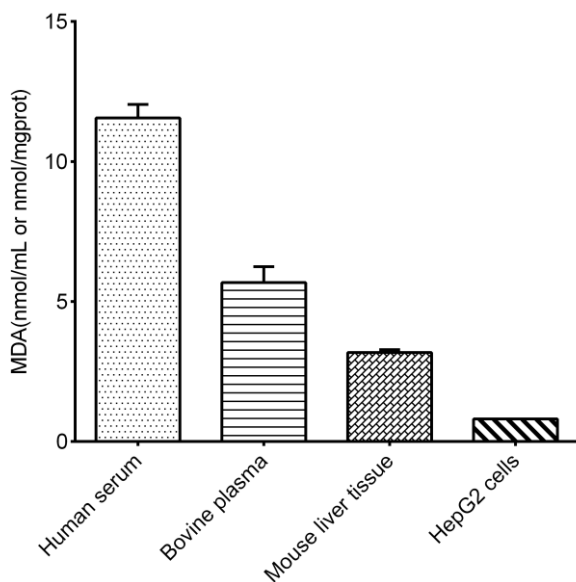
取0.1 mL人血清, 按操作表操作, 结果如下:

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:

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

(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. 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 nanoplatform 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