

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ076

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。

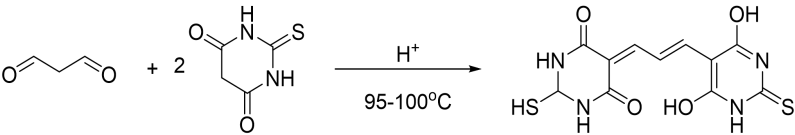
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

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℃ 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	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($\mu\text{mol/L}$)	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℃，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：GBQ162)。

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：

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

组织中 MDA 含量的计算公式：

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

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）

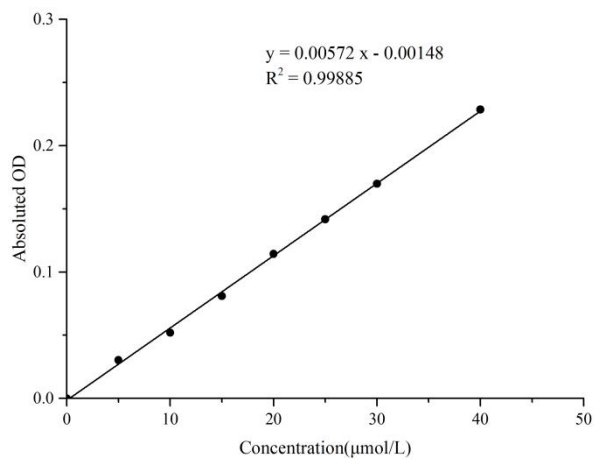
附录1 关键数据

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

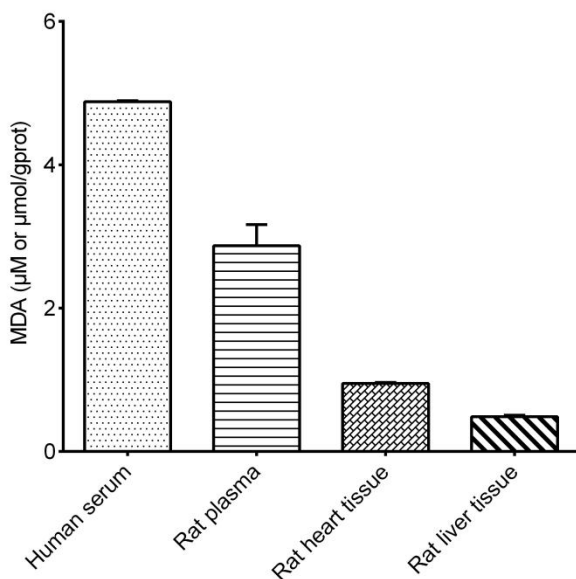
例如检测大鼠肝脏组织(数据仅供参考):

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:

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

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℃
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 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
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