

(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-K298-F

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 荧光酶标仪 (激发波长 520 nm, 发射波长 550 nm)

Elabscience[®]硫代巴比妥酸反应物 (TBARS)

荧光法测试盒

Thiobarbituric Acid Reactants (TBARS)

Fluorometric Assay Kit

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。

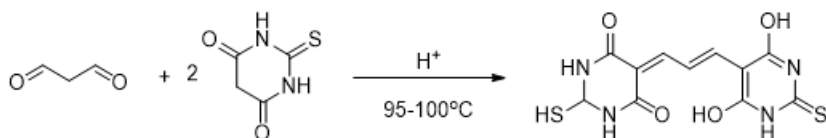
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、动物组织、细胞等样本中的 TBARS 含量。

检测原理

TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) 主要指丙二醛，可以和 TBA 在高温和酸性条件下反应形成的粉红色的化合物，其浓度与样本中 TBARS 的浓度具有线性关系，通过测定激发波长 520 nm，发射波长 550 nm 下荧光值可以间接计算 TBARS 的浓度。



本试剂盒在检测组织和细胞样本时，需要测定总蛋白浓度，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)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	澄清剂 (Clarificant)	12 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酸试剂 (Acid Reagent)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	TBA 试剂 (TBA Reagent)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8°C避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	20 μmol/L 标准品 (20 μmol/L Standard)	5 mL×1 瓶	5 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	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：荧光酶标仪 ($\lambda_{ex}/em = 520\text{ nm}/550\text{ nm}$)

试剂：冰乙酸、双蒸水或去离子水、生理盐水 (0.9% NaCl) 或 PBS (0.01 M, pH 7.4)

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 试剂二应用液的配制：

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 60 mL 90-100℃的双蒸水中，搅拌溶解，加冰乙酸 60 mL，混匀，冷却至室温，2-8℃避光保存 1 个月。（冰乙酸自备）。

- ⑤ 显色剂的配制：

按试剂二应用液：试剂三应用液=3: 1 的比例混匀即可，现配现用，24 h 之内用完。

- 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	0.5	1	2	4	6	8	10
20 $\mu\text{mol/L}$ 标准品(μL)	0	25	50	100	200	300	400	500
双蒸水(μL)	1000	975	950	900	800	700	600	500

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：直接进行测定。

组织样本：取 0.020-1 g 新鲜组织块，用 2-8°C 的 PBS (0.01 M, pH 7.4) 漂洗，去除血液，滤纸吸干，称重，放入匀浆容器中，按照重量 (g) : 体积 (mL) = 1: 9 的比例加入 PBS (0.01 M, pH 7.4)，进行匀浆，4°C，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留一部分上清用于蛋白测定。

细胞样本：收集细胞，按照 10⁶ 个细胞加入 300 μL 匀浆介质的比例加入 PBS (0.01 M, pH 7.4)，进行机械匀浆，充分破碎（无明显的细胞沉淀，可在显微镜下观察），4°C，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留一部分上清用于蛋白测定。

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：0.09-10 μmol/L，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	人血浆	不稀释
大鼠血清	不稀释	小鼠血清	不稀释
10%小鼠脑匀浆	不稀释	10%大鼠肝匀浆	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 60 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 标准管：取 0.1 mL 不同浓度的标准品，分别加入到带有标准编号 10 mL 玻璃试管中；
样本管：取 0.1 mL 待测样本，加入到 10 mL 玻璃试管中。
- ② 向步骤①中的各管加入 0.1 mL 试剂一。
- ③ 向步骤②中各管加入 4 mL 的显色剂。
- ④ 试管口用保鲜膜扎紧，充分混匀，并在保鲜膜上扎一个小孔，100°C 水浴 1 h。
- ⑥ 流水冷却至室温，1600 × 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 520 nm 激发波长和 550 nm 发射波长的荧光值。

操作表

	标准管	测定管
不同浓度的标准品(mL)	0.1	
待测样本(mL)		0.1
试剂一(mL)	0.1	0.1
显色剂(mL)	4	4
混匀，试管口用保鲜膜扎紧，并在保鲜膜上扎一小孔，100°C 以上水浴 1 h，流水冷却至室温，1600 × 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 520 nm 激发波长和 550 nm 发射波长的荧光值。		

本试剂盒检测组织或细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清(浆) TBARS 含量的计算公式:

$$\text{TABRS} \begin{matrix} (\mu\text{mol/L}) \end{matrix} = (\Delta F - b) \div a \times f$$

组织、细胞中 TBARS 含量的计算公式:

$$\text{TABRS} \begin{matrix} (\mu\text{mol/gprot}) \end{matrix} = (\Delta F - b) \div a \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解:

y: 标准品在 $\lambda_{\text{ex/em}} = 520 \text{ nm}/550 \text{ nm}$ 相对荧光值 (标准品荧光值-空白荧光值)

x: 标准品的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

ΔF : 绝对荧光值 (样本测定荧光值-空白荧光值)

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

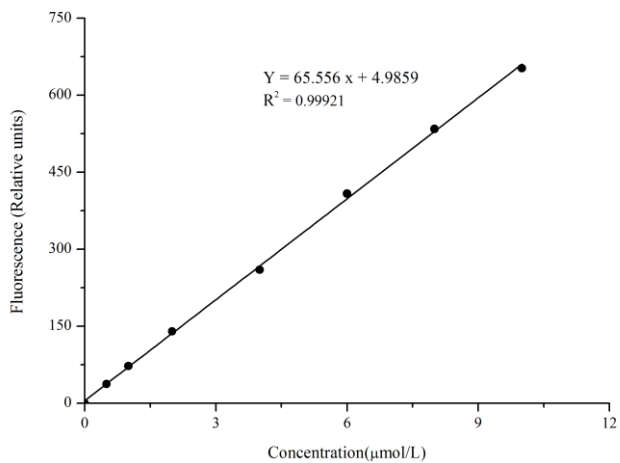
C_{pr} : 样本的蛋白浓度 (gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.09-10 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	2.8 %
灵敏度	0.09 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	1.7 %
平均回收率	95.7 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

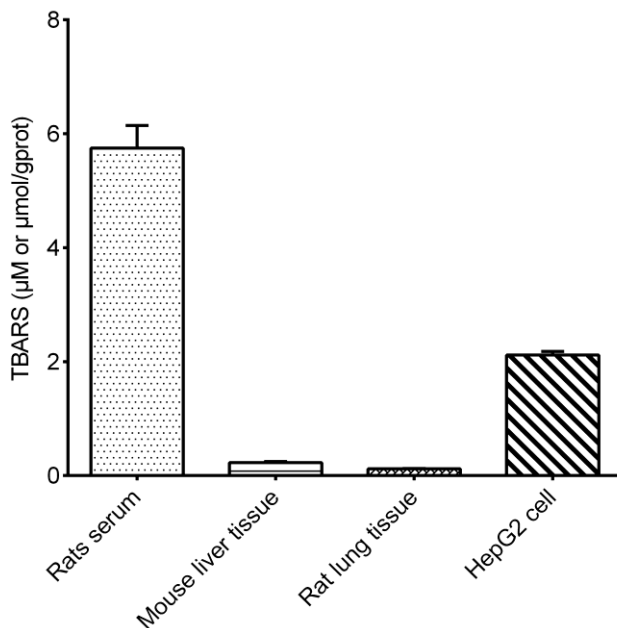
例如检测小鼠肝脏组织(数据仅供参考):

用PBS (0.01 M, pH 7.4) 将10%小鼠肝匀浆稀释10倍, 取0.1 mL 稀释后的样本, 按操作表操作, 结果如下:

标准曲线: $y = 63.104x + 13.471$, 测定管平均荧光值为70.527, 空白管平均荧光值为33.423, 同时测得匀浆蛋白含量为16.56 gprot/L计算结果为:

$$\text{TBARS 含量} (\mu\text{mol/gprot}) = (70.527 - 33.423 - 13.471) \div 63.104 \times 10 \div 16.56 = 0.23 \mu\text{mol/gprot}$$

按照说明书操作, 测定大鼠血清(稀释10倍, 加样量0.1 mL)、小鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量16.56 g/L, 稀释10倍, 加样量0.1 mL)、大鼠肺组织((10%组织匀浆的蛋白含量5.04g/L, 稀释2倍, 加样量0.1 mL)及 HepG2(蛋白含量6.09 g/L, 加样量0.1 mL)中的TBARS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，避免产生气泡
	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者保存不当	取新鲜样本，重新检测

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于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 N, 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