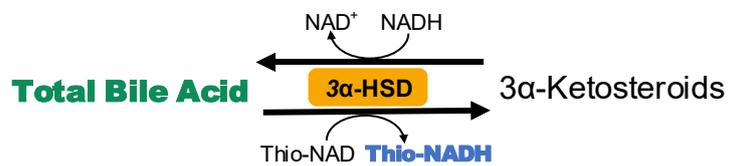




总胆汁酸 (TBA) 含量检测试剂盒
Total Bile Acid Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



总胆汁酸 (TBA) 含量检测试剂盒

Total Bile Acid Content Assay Kit

一、产品描述

总胆汁酸 (Total Bile Acid, TBA) 是胆固醇肝脏分解代谢的产物, 是肝脏分泌到胆汁中含量最多的有机酸。当肝细胞损伤或胆道阻塞时, 会引起胆汁酸代谢障碍, 血清胆汁酸增高。因此测定血清总胆汁酸是评估肝胆功能、筛查胆汁淤积及监测相关疾病治疗效果的重要生化指标。

胆汁酸与 Thio-NAD 在 3 α -羟基类固醇脱氢酶 (3 α -Ketosteroids, 3 α -HSD) 作用下生成 Thio-NADH 和 3 α -酮类固醇, 随后 3 α -酮类固醇与 NADH 在 3 α -HSD 作用下生成胆酸汁和 NAD⁺。Thio-NADH 在 405 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可定量检测总胆酸汁的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 55 mL×1 瓶	-20°C 保存	建议-20°C分装保存, 避免反复冻融
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 4 mL 试剂四充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 16 mL 试剂四充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂四	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	1000 μ mol/L 胆酸汁标准液
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 1000 μ mol/L 胆酸汁标准液使用蒸馏水稀释至 24、12、6、3、1.5、0.75 μ mol/L 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μ mol/L)	1000	100	24	12	6	3	1.5
标准液体积 (μ L)	100	240	500	500	500	500	500
蒸馏水体积 (μ L)	900	760	500	500	500	500	500
稀释后浓度 (μ mol/L)	100	24	12	6	3	1.5	0.75

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③血清（浆）等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。注：若液体样本浑浊，建议 4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 405 nm，蒸馏水调零。

②试验前根据使用量将部分试剂一置于 37℃ 预热 5 min。

③在 1 mL 玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
待测样本	50	-	-
标准稀释液	-	50	-
蒸馏水	-	-	50
试剂一	700	700	700
试剂二	50	50	50
试剂三	200	200	200

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 60 s（总时间）时 405 nm 处吸光值，记为 A1 测定、A1 标准和 A1 空白；②37℃ 准确反应 240 s，测定 300 s（总时间）时 405 nm 处吸光值，记为 A2 测定、A2 标准和 A2 空白；③计算 ΔA 测定 = (A2 测定 - A1 测定) - (A2 空白 - A1 空白)， ΔA 标准 = (A2 标准 - A1 标准) - (A2 空白 - A1 空白)。注：各浓度标准组和空白组只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 24、12、6、3、1.5、0.75 $\mu\text{mol/L}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/L}$)。

3.总胆汁酸 (TBA) 含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{TBA 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times D}{1000 \times \text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{TBA 含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V \text{ 提} \times D}{1000 \times W} = \frac{x \times D}{1000 \times W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{TBA 含量 } (\mu\text{mol}/10^4\text{cell}) = \frac{x \times V \text{ 提} \times D}{1000 \times \text{细菌或细胞数量}} = \frac{x \times D}{1000 \times \text{细菌或细胞数量}}$$

④液体样本体积计算

$$\text{TBA 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times D}{1000}$$

注释: V 提: 样本提取过程中加入提取液的体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 细菌或细胞数量: 以万计, 若 500 万细菌或细胞数量则代入 500 即可; D: 待测样本稀释倍数, 若未稀释则为 1。1000: 换算系数, 1 L=1000 mL。

四、注意事项

①若测定样本较多, 可将试剂一、试剂二和试剂三按比例配成检测工作液 (现用现配), 37°C 预热 5 min, 测定时加入 50 μL 待测样本和 950 μL 检测工作液;

②准确在规定时间点完成吸光值测定, 以确保检测结果的准确性和重复性;

③若 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围: 高于最高值建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定; 低于最低值建议制备更高浓度样本后再进行测定, 计算时相应修改;

④为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

