

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ135

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(400-410 nm)

Elabscience®总胆汁酸(TBA)比色法测试盒

Total Bile Acid (TBA) Colorimetric 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、动物组织样本中总胆汁酸(TBA)的含量。

检测原理

以硫代氧化型辅酶 I(S-NAD⁺)为氢受体, 3 α -羟基类固醇脱氢酶催化胆汁酸脱氢产生 3-酮类固醇, 使 S-NAD⁺转化为硫代还原型辅酶 I(S-NADH)。以还原型辅酶 I(NADH)为氢供体, 3 α -羟基类固醇脱氢酶催化 3-酮类固醇产生胆汁酸, 通过酶循环反应, 不断生成 S-NADH, 该物质在 405 nm 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: GBQ162)。

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)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	0.2 mmol/L 标准品 (0.2 mmol/L Standard)	2 mL×1 瓶	2 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 3 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(400-410 nm，最佳检测波长为 405 nm)、37℃恒温箱

试剂准备

- ① 试剂平衡至室温。
- ② 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(μmol/L)	0	5	10	20	25	30	35	40
0.2 mmol/L 标准品(μL)	0	25	50	100	125	150	175	200
去离子水(μL)	1000	975	950	900	875	850	825	800

样本准备

① 样本处理

血清样本：直接测定。

组织样本：取 0.020-0.1 g 新鲜组织块，用 2-8℃的 PBS (0.01 M, pH 7.4) 漂洗，去除血液，滤纸吸干，称重，放入匀浆器中，按照重量 (g)：体积 (mL) = 1：9 的比例加入生理盐水 (0.9% NaCl) 或 PBS (0.01 M, pH 7.4，进行匀浆，4℃，10000 × g 离心 10 min。取上清置于冰上待测，留取部分上清进行蛋白测定。

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：1.77-40 μmol/L，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	大鼠血清	不稀释
狗血清	不稀释	牛血清	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%小鼠肝	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 试剂一、二加入板孔中时注意不要打出气泡。
- ② 标准品、样本加入板孔中时，应触底加入。

操作步骤

- ① 标准孔：取 10 μL 不同浓度标准品，加入到对应的标准孔中；
测定孔：取 10 μL 待测样本，加入到测定孔中。
- ② 向①中各孔加入 200 μL 试剂一。
- ③ 向②中各孔加入 50 μL 试剂二。
- ④ 37℃ 条件下孵育 3 min。
- ⑤ 酶标仪 405 nm 处，测定各孔 OD 值，记录为 A₁。
- ⑥ 37℃ 条件下再孵育 5 min。
- ⑦ 酶标仪 405 nm 处，测定各孔 OD 值，记录为 A₂。
- ⑧ 计算 $\Delta A/min=(A_2-A_1)/5$ 。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度标准品(μL)	10	--
待测样本(μL)	--	10
试剂一(μL)	200	200
试剂二(μL)	50	50
37℃ 条件下孵育 3 min，酶标仪 405 nm，测定各孔 OD 值，记录为 A ₁ ；37℃ 条件下再孵育 5 min，酶标仪 405 nm，测定各孔 OD 值，记录为 A ₂ ，计算 $\Delta A/min=(A_2-A_1)/5$ 。		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 GBQ162)进行测定。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清总胆汁酸含量计算公式:

$$\text{TBA 含量} = (\Delta A_{405} - b) \div a \times f$$

($\mu\text{mol/L}$)

组织总胆汁酸含量计算公式:

$$\text{TBA 含量} = (\Delta A_{405} - b) \div a \times f \div C_{\text{pr}}$$

($\mu\text{mol/gprot}$)

注解:

y: 标准品 $\Delta A/\text{min}$ -空白 $\Delta A/\text{min}$ (标准品浓度为 0 时的 $\Delta A/\text{min}$)

x: 标准品的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

ΔA_{405} : 样本测定 $\Delta A/\text{min}$ -空白 $\Delta A/\text{min}$

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr} : 样本蛋白浓度 (gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

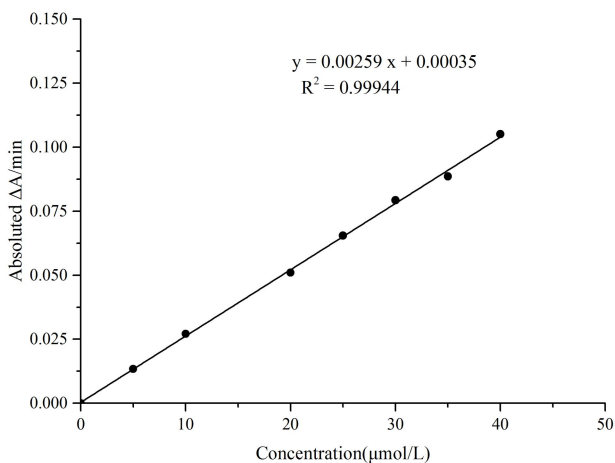
检测范围	1.77-40 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	3.7 %
灵敏度	1.36 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	3.4%
回收率	97 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量10 μL ，按照操作步骤进行实验，读取各点OD值如下表所示：

标准品浓度($\mu\text{mol/L}$)	0	5	10	20	25	30	35	40
A_1 值	0.348	0.384	0.421	0.487	0.530	0.578	0.607	0.644
	0.349	0.384	0.422	0.492	0.535	0.575	0.604	0.648
平均 A_1 值	0.349	0.384	0.422	0.490	0.533	0.577	0.606	0.646
A_2 值	0.350	0.452	0.557	0.743	0.850	0.978	1.044	1.166
	0.350	0.452	0.559	0.748	0.872	0.970	1.055	1.179
平均 A_2 值	0.350	0.452	0.558	0.746	0.861	0.974	1.050	1.173
$\Delta A/\text{min}=(A_2-A_1)/5$	0.000	0.014	0.027	0.051	0.066	0.080	0.089	0.105
绝对 $\Delta A/\text{min}$ 值	0.000	0.013	0.027	0.051	0.066	0.079	0.089	0.105

②绘制标曲(如下图)：



附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

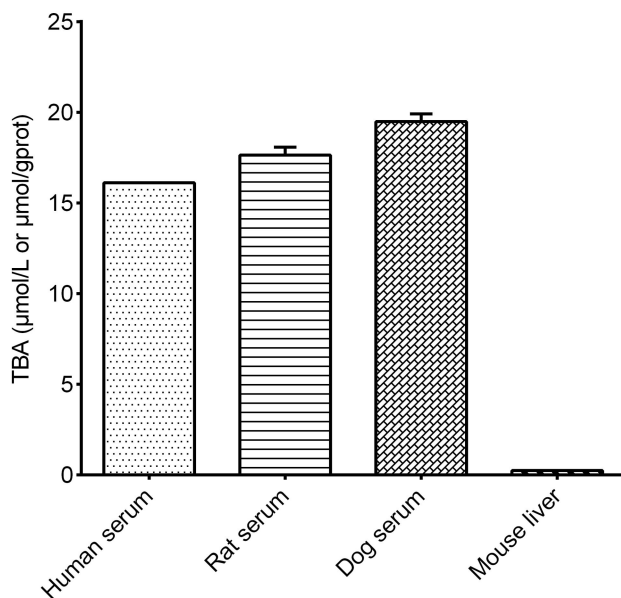
取人血清10 μL , 按操作表检测, 结果如下:

标准曲线: $y = 0.00259x + 0.00035$, 测定孔 A_1 平均值为0.390、 A_2 平均值为0.615; 空白孔 A_1 平均值为0.349、 A_2 平均值为0.349。测定孔 $\Delta A/\text{min} = (0.615 - 0.390)/5 = 0.045$, 空白孔 $\Delta A/\text{min} = (0.349 - 0.349)/5 = 0$, 计算结果为:

$$\text{TBA 含量} = (0.045 - 0.00035) \div 0.00259 = 17.24 \mu\text{mol/L}$$

($\mu\text{mol/L}$)

按照说明书操作, 测定人血清(加样量10 μL)、大鼠血清(加样量10 μL)、狗血清(加样量10 μL)、小鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量7.02 gprot/L , 加样量10 μL)中TBA含量(如下图):



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. Zhang X, He C, Chen Y, et al. Cyclic reactions-mediated self-supply of H₂O₂ and O₂ for cooperative chemodynamic/starvation cancer therapy[J]. *Biomaterials*, 2021, 275:120987-. IF:12.479
2. Xia H, Scholtes C, Dufour CR, et al. Insulin action and resistance are dependent on a GSK3 β -FBXW7-ERR α transcriptional axis. *Nat Commun*. 2022; 13 (1):2105. IF:14.919
3. Liu Q, Zhang T X, Zheng Y D, et al. Calixarene-Embedded Nanoparticles for Interference-Free Gene-Drug Combination Cancer Therapy[J]. *Small*, 2021, 2006223. IF:11.459
4. He C, Zhang X, Chen C, et al. A solid lipid coated calcium peroxide nanocarrier enables combined cancer chemo/chemodynamic therapy with O₂/H₂O₂ self-sufficiency[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 122. IF:8.203
5. Chen L, Tao F, Zhang Y, et al. Islet-cell autoantigen 69 accelerates liver regeneration by downregulating Tgf β 1 and attenuating Tgf β signaling in mice[J]. *FEBS Letters*, 2020, 594(17). IF:6.665
6. Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2021:2001133. IF:5.914
7. Wang C, Ma C, Fu K, et al. Phillygenin Attenuates Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis via Modulating Inflammation and Gut Microbiota[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 9, 21. IF:5.81
8. Du Y Q, Zheng Y Z, Yu C X M, et al. The Mechanisms of Yu Ping Feng San in Tracking the Cisplatin-Resistance by Regulating ATP-Binding Cassette Transporter and Glutathione S-Transferase in Lung Cancer Cells[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021; 12: 678126. IF:5.81
9. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. *Pharmacological Research*, 2019, 147, 104357. IF:5.574
10. Cao X, Liang Y, Liu R, et al. Uncovering the Pharmacological Mechanisms of Gexia-Zhuyu Formula (GXZY) in Treating Liver Cirrhosis by an Integrative Pharmacology Strategy. *Front Pharmacol*. 2022; 13:793888. IF:5.331
11. Wang Y, Xie W, Feng Y, et al. Epithelial-derived exosomes promote M2 macrophage

polarization via Notch2/SOCS1 during mechanical ventilation. Int J Mol Med. 2022; 50 (1).
IF:5.314

12. Jung D S, Son Y J, Shin J M, et al. Gymnaster Koraiensis Extract Alleviated Metabolic Syndrome Symptoms and Stimulated UCP1-Independent Energy Consumption via AMPK Activation in White Adipose Tissue[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2020. IF:5.309
13. Ali A K, Komal A K, Almutairi S M, et al. Natural killer cell-derived IL-10 prevents liver damage during sustained murine cytomegalovirus infection[J]. Frontiers in immunology, 2019, 10: 2688. IF:5.085
14. Xu Y , Zhang Y , Xu Y , et al. Activation of CD137 signaling promotes macrophage apoptosis dependent on p38 MAPK pathway-mediated mitochondrial fission[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2021 Jul;136:106003. IF:5.085
15. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. Life Sciences 266 (2021) 118876. IF:5.037
16. Ahmed A E, Alshehri A, Al-Kahtani M A, et al. Vitamin E and selenium administration synergistically mitigates ivermectin and doramectin-induced testicular dysfunction in male Wistar albino rats[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 124: 109841. IF:4.545
17. Su S, Tian H, Jia X, et al. Mechanistic insights into the effects of SREBP1c on hepatic stellate cell and liver fibrosis[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2020. IF:4.486
18. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2020. IF:4.486
19. Dejan Lazić, Andreas Scheurer, Dušan Čoćić, et al. New bis-pyrazolylpyridine ruthenium(III) complex as a potential anticancer drug: In vitro and in vivo activity in murine colon cancer[J]. Dalton Transactions, 2021 Jun; 50(22):7686-7704. IF:4.39
20. Li X, Lv Z, Chen J, et al. Bacillus amyloliquefaciens B10 can alleviate liver apoptosis and oxidative stress induced by aflatoxin B1[J]. Food and Chemical Toxicology, 2021, 151:112124. IF:4.06
21. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al. Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. Gene, 2020, 768(7):145288. IF:3.688

