

(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-K181-M

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: 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)	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 E-BC-K318-M)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:

$$\begin{array}{l} \text{TBA 含量} \\ (\mu\text{mol/L}) \end{array} = (\Delta A_{405} - b) \div a \times f$$

组织总胆汁酸含量计算公式:

$$\begin{array}{l} \text{TBA 含量} \\ (\mu\text{mol/gprot}) \end{array} = (\Delta A_{405} - b) \div a \times f \div C_{\text{pr}}$$

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

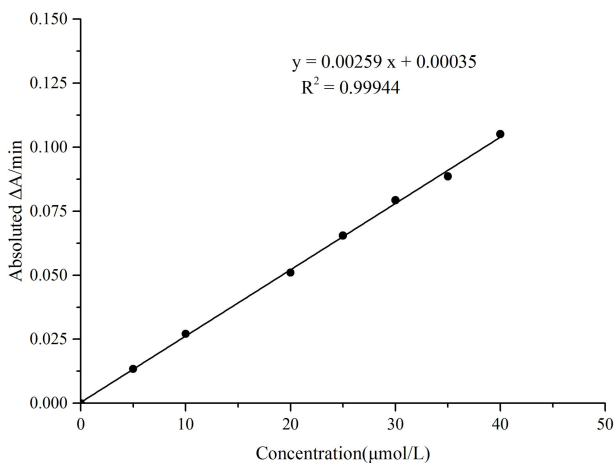
检测范围	1.77-40 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	3.7 %
灵敏度	1.36 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	3.4%
回收率	97 %		

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):

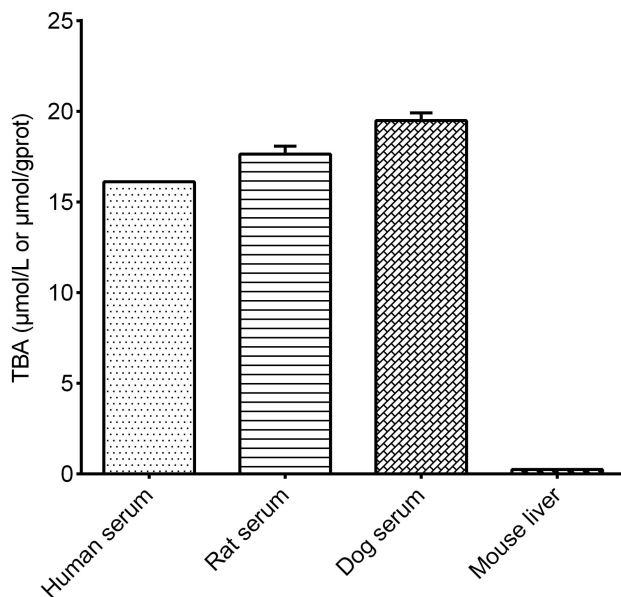
取人血清10 μL , 按操作表检测, 结果如下:

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. Wang Y, Wang J, Zhou T , et al. Investigating the potential mechanism and therapeutic effects of SLXG for cholesterol gallstone treatment[J]. *Phytomedicine*, 2024, 132(000):16. DOI:10.1016/j.phymed. 2024.155886.
2. Ma X, Zhang W, Chen Y, et al. Paeoniflorin inhibited GSDMD to alleviate ANIT-induced cholestasis via pyroptosis signaling pathway[J]. *Phytomedicine*, 2024, 134(000):11. DOI: 10.1016/j.phymed. 2024.156021.
3. Zhang X, Li Z, Hu R, et al. Exposure memory and susceptibility to ambient PM_{2.5}: A perspective from hepatic cholesterol and bile acid metabolism[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2024, 280(000):10. DOI:10.1016/j.ecoenv. 2024.116589.
4. Han S, Wang K, Shen J, et al. Probiotic *Pediococcus pentosaceus* Li05 Improves Cholestasis through the FXR-SHP and FXR-FGF15 Pathways[J]. *Nutrients*, 2023, 15(23):16. DOI: 10.3390/nu15234864.
5. Wu L, Li W, Chen G, et al. Ameliorative effects of monascin from red mold rice on alcoholic liver injury and intestinal microbiota dysbiosis in mice[J]. *Food Bioscience*, 2022. DOI: 10.1016/j.fbio.2022.102079.

