# 总胆汁酸(TBA)(酶循环比色法)含量检测试剂盒

# 微板法

**本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断**

# 使用说明书

**货号：**JL-T1373　　**有 效 期：**6 个月

**规格：**48T(46S)/96T(94S)　　**保存温度：**2-8℃和-20℃

## 实验原理：

TBA 由肝脏分解代谢，其血清浓度升高反应肝实质性损伤。因此，TBA 测定用于检测慢性肝病价值很大。

胆汁酸倍 3α-羟甾醇脱氢酶（3α-HSD）以及氧化型β-硫代烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（Thio-NAD）特异性氧化，生成 3-酮类固醇以及还原型β-硫代烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（Thio-NAD）。生成的 3-酮类固醇在 3α-羟甾醇脱氢酶及还原型β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（Thio-NAD）存在下，再生成胆汁酸及氧化型β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD）。如上述所诉循环放大使检测灵敏度提高。测定在单位时间内生成的还原型β-硫代烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（Thio-NAD）在 405nm 处的吸光度变化，以求得胆汁酸的含量。

**检测范围：1-200μmol/L　　灵敏度：1μmol/L**

## 注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号和批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，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。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

## 产品组成：

| 试剂名称 | 规格（48T/46S） | 规格（96T/94S） | 保存条件 |
|---|---|---|---|
| 试剂一 | 10mL×1 瓶 | 20mL×1 瓶 | -20℃，避光 |
| 试剂二 | 2.5mL×1 瓶 | 5mL×1 瓶 | -20℃，避光 |
| 标准品 | 粉剂×1 瓶 | 粉剂×2 瓶 | 2-8℃，避光 |

## 所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、实验级无水乙醇、水浴锅。

## 样本处理及要求：

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1-200μmol/L，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，样本的稀释液为无水乙醇。

2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性

3. **血清（浆）等液体样本**：直接测定。若浑浊，离心后取上清测定。

4. **组织样本：**按照组织质量(g):无水乙醇体积(mL)为 1:5~10 的比例（例如约 0.1g 组织，加入 1mL 无水乙醇）进行匀浆，匀浆后，4℃，10000 g 离心 10min，取上清置冰上待测。

5. **细菌/细胞样本：**收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌/细胞数量（$10^4$）：无水乙醇（mL）为 500~1000：1 的比例(建议按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 无水乙醇)，超声波破碎细菌或细胞（功率 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），10000 g，离心 10min，取上清待测。

## 检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。

2. **标准品溶液的配制：**临用前取一瓶加入 5mL 无水乙醇混匀，配置成 1μmol/mL 标准品母液。取一新 EP 管中加入 50μL 标准品母液，再加入 950μL 无水乙醇混匀，配置成 50μmol/L 标准品溶液，配置好后母液 2-8℃可保存 3 天。

## 操作步骤：

1. **酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm。**

2. **样本测定（在 96 孔板中依次加入）：**

| 试剂名称(μL) | 测定孔 | 标准孔 | 空白孔 |
|---|---|---|---|
| **样本** | 10 | | |
| **50μmol/L 标准品** | | 10 | |
| **蒸馏水** | | | 10 |
| **试剂一** | 200 | 200 | 200 |
| **试剂二** | 50 | 50 | 50 |
| 混匀，酶标仪设置震板 3s，立即于 405nm 处检测 OD 值，记为 $A_1$ | | | |
| 37℃孵育 10min 后再次于 405nm 处检测 OD 值，记为 $A_2$，$\triangle A=A_2-A_1$ | | | |

## 实验结果结算：

1. **按液体体积计算：**

总胆汁酸(TBA)(μmol/L)=($\triangle A_{测定}$-$\triangle A_{空白}$)÷($\triangle A_{标准}$-$\triangle A_{空白}$)×$C_{标}$×N

2. **按样本质量计算：**

总胆汁酸(TBA)(nmol/g)=($\triangle A_{测定}$-$\triangle A_{空白}$)÷($\triangle A_{标准}$-$\triangle A_{空白}$)×$C_{标}$×$V_{提}$÷W×N

3. **按细菌或细胞密度计算：**

总胆汁酸(TBA)(nmol/$10^4$cell)=($\triangle A_{测定}$-$\triangle A_{空白}$)÷($\triangle A_{标准}$-$\triangle A_{空白}$)×$C_{标}$×$V_{提}$÷500×N

注：

$\triangle A_{测定}$：样本测定孔变化 OD 值，$A_2$-$A_1$

$\triangle A_{空白}$：空白孔变化 OD 值，$A_2$-$A_1$　　$\triangle A_{标准}$：标准孔变化 OD 值，$A_2$-$A_1$

$V_{提}$：加入提取液（无水乙醇）体积，1mL

$C_{标}$:标准品浓度,50mol/L=50nmol/mL　N：样本稀释倍数

W：样品质量，g　　500：细胞或细菌数量，万

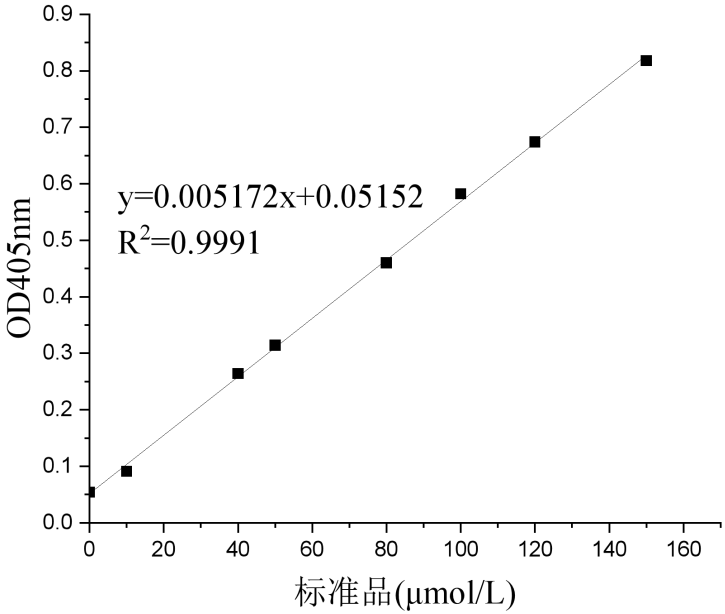
## 参考样本数据：

以下数据仅供参考：

| 样本类型 | 稀释倍数 | 参考值 |
|---|---|---|
| 人血清 | 不稀释 | 2.926μmol/L |
| 大鼠血清 | 不稀释 | 5.186μmol/L |
| 大鼠肝脏（10%匀浆） | 不稀释 | 163.298nmol/g |

## 参考曲线：

y=0.005172x+0.05152,$R^2$=0.9991,x 是标准品的浓度（μmol/L），y 是△A。




注意：标准曲线仅供参考，用户不用制作。

**咨询电话：400-0066-400**

**传　　真：021-55660885**

**电子邮箱：shjlsw@163.com**

**网　　址：www.jonln.com**