

## 总胆汁酸(TBA)(酶循环比色法) 含量检测试剂盒 (微板法)

产品货号: BA2899

产品规格: 48样/96样

### 产品简介:

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

胆汁酸被3 $\alpha$ -羟甾醇脱氢酶(3 $\alpha$ -HSD)以及氧化型 $\beta$ -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 $\beta$ -硫代烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (Thio-NADH)。生成的3-酮类固醇在3 $\alpha$ -羟甾醇脱氢酶及还原型 $\beta$ -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(Thio-NADH)存在下, 再生成胆汁酸及氧化型 $\beta$ -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)。如上所述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 $\beta$ -硫代烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(Thio-NADH)在405nm处的吸光度变化, 以求得胆汁酸的含量。

### 试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	液体5mL×1瓶	2-8°C	
标准管	液体0.2mL×1支	2-8°C	浓度为50 $\mu$ mol/L。

### 所需仪器和用品:

酶标仪、96孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

### 总胆汁酸(TBA)含量检测:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

#### 1. 样本制备:

- 液体样品: 澄清的液体可直接检测; 若浑浊则离心后取上清液检测。
- 组织样本: 称取约0.1g组织样本加入研钵中, 加入1mL无水乙醇, 在冰上进行匀浆, 若有损失则用无水乙醇补充到1mL, 12000rpm, 4°C或室温离心10min, 取上清液待测。
- 细胞样本: 先收集细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约500万细菌或细胞加入1mL无水乙醇, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 12000rpm 4°C离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10<sup>4</sup>): 提取液(mL)为500~1000: 1的比例进行提取。

#### 2. 上机检测:

- 酶标仪预热30min, 设置温度在37°C, 设定波长到405nm。
- 所有试剂解冻至室温, 在96孔板中依次加入:

试剂名称 ( $\mu$ L)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	10		
蒸馏水		10	
标准品			10
试剂一	200	200	200
试剂二	50	50	50
混匀, 37°C孵育0.5min后, 于405nm处读取A1, 再孵育10min后读取A2,			



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

$$\Delta A = A_2 - A_1。$$

【注】：1.若A2值大于2，须用生理盐水或蒸馏水对样本上清液进行稀释，稀释倍数D代入计算公式；或缩短读值时间（如10min降低为5min后读取A2）（测定管和标准管和空白管需同时缩短）。

2.若ΔA值小于0.005，可增加样本加样体积V1（如由10μL增至20μL，空白管也由10μL增至20μL蒸馏水，标准管为10μL+10μL蒸馏水（总体积同测定管和空白管即20μL）；其他试剂均保持不变）；或者延长孵育时间（如再孵育20min后读取A2）；或者增加组织样本的取样质量W；则改变后的V1和W代入公式重新计算。

### 结果计算：

1. 按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{总胆汁酸(TBA)}(\mu\text{mol/L}) &= (\text{C标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= \text{C标准} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \times \text{D} \end{aligned}$$

2. 按照样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{总胆汁酸(TBA)}(\text{nmol/g重量}) &= (\text{C标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div (\text{V1} \div \text{V} \times \text{W}) \times \text{D} \\ &= \text{C标准} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

3. 按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{总胆汁酸(TBA)}(\text{nmol}/10^4\text{cell}) &= (\text{C标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div (\text{V1} \div \text{V} \times 500) \times \text{D} \\ &= \text{C标准} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div 500 \times \text{D} \end{aligned}$$

C标准---标品浓度，50μmol/L=50nmol/mL； V1---加入样本体积，0.01mL；

V2---加入标准品体积，0.01mL； V---提取液体积，1mL；

500---细胞数量，万；

W---组织样本取样质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为1。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com