

直接胆红素（DBIL）含量检测试剂盒说明书

微量法

货号：BC5175

规格：100T/96S

产品内容：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 25mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 6mL×1 瓶	2-8℃保存

产品说明：

直接胆红素（Direct bilirubin, DBil）又称结合胆红素，是由间接胆红素进入肝后受肝内葡萄糖醛酸基转移酶的作用与葡萄糖醛酸结合生成的。直接胆红素增高对临床诊断阻塞性黄疸、肝细胞性黄疸、肝癌、胰头癌、胆石症、胆管癌等有重要意义。直接胆红素能被亚硝酸钠氧化，生成胆绿素。通过检测 450nm 下波长变化，可计算出直接胆红素的含量。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

血清、血浆等液体样本：直接测定。若溶液浑浊，可以离心后取上清进行测定。

二、测定步骤

1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm，分光光度计用蒸馏水调零。

2、按下表步骤加样：（96 孔板或者 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称（μL）	测定管	空白管
样本	8	
蒸馏水		8
试剂一	192	192
充分混匀，置于 37℃水浴锅/恒温培养箱中孵育 5min，测定 450nm 处吸光度 A，分别记为 A1 测定、A1 空白		
试剂二	48	48
充分混匀，置于 37℃水浴锅/恒温培养箱中准确反应 5min，测定 450nm 处吸光度 A，分别记为 A2 测定、A2 空白；计算 ΔA 测定=A1 测定-A2 测定；ΔA 空白=A1 空白-A2 空白。空白管只需测 1-2 次。（使用比色皿反应时，第一步 5min 反应完成将液体倒入比色皿比色后，可直接在比色皿中加入试剂二混合均匀反应 5min 直接进行测定；使用 96 孔板反应时，可以将上述试剂直接加入 96 孔板中反应第一步的 5min，之后直接加入试剂二进行第二步反应）		





三、DBIL 含量计算

1、计算公式

(1) 使用 96 孔板:

$$\text{DBIL 含量} (\mu\text{mol/L}) = 1495.7 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) - 15.343$$

(2) 使用微量比色皿:

$$\text{DBIL 含量} (\mu\text{mol/L}) = 1099.7 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) - 10.73$$

注意事项:

- 1、胆红素见光易分解, 测定时要尽量避免光。
- 2、如果 $\Delta A < 0$ 或过低, 建议增加样本量后再进行测定; 如果 $\Delta A > 0.5$, 建议稀释样本后再进行测定。

实验实例:

- 1、取非正常小鼠血清按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 $\Delta A \text{ 测定} = A1 \text{ 测定} - A2 \text{ 测定} = 0.217 - 0.170 = 0.047$, $\Delta A \text{ 空白} = A1 \text{ 空白} - A2 \text{ 空白} = 0.044 - 0.044 = 0$, 计算含量得:

$$\text{DBIL} (\mu\text{mol/L}) = 1495.7 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) - 15.343 = 54.95 \mu\text{mol/L}。$$

相关发表文献:

- [1] Yao Z, Chen L, Hu M, Meng F, Chen M, Wang G. The discovery of a new potent FXR agonist based on natural product screening. Bioorg Chem. 2024 Feb;143:106979. doi: 10.1016/j.bioorg.2023.106979. Epub 2023 Nov 19. PMID: 37995646.

相关系列产品:

BC5180/BC5185 总胆红素 (TBIL) 含量检测试剂盒

