



尿素氮检测试剂盒 BUN Assay Kit

微量法

产品编号: AK384M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

| 编号 | 规格 | 储存条件 |
|-----------|----------|--------------------------------------------|
| AK384-A | 6mL×1 瓶 | 4℃避光保存 |
| AK384-B | 60mL×1 瓶 | 4℃避光保存 |
| AK384-标准品 | 粉剂×1 支 | 4℃保存, 临用前加入 4.66 mL 蒸馏水配制成 1 mg/mL 尿素氮标准液。 |

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 尿素是生物体内含氮化合物分解的终产物, 在尿酶催化下分解转化成氨。血液尿素氮是肾功能的主要指标之一。

原理: 样本中尿素氮在氯化高铁一磷酸溶液中与二乙酰一肟和硫胺脲共煮, 生成一种红色的二嗪化合物, 其颜色的深浅与尿素氮含量成正比, 采用二乙酰一肟法测定尿素氮含量。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、天平、研钵、常温离心机、恒温水浴锅。

样品处理:

1. 组织: 按照质量 (g) : 蒸馏水体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL 蒸馏水) 加入蒸馏水, 匀浆后于 4℃, 10000g 离心 10min, 取上清待测。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10⁴ 个) : 蒸馏水体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 蒸馏水), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 4℃, 10000g 离心 10min, 取上清置于冰上待测。
3. 血清或其它液体: 直接检测。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 580nm, 蒸馏水调零。
2. 将 1mg/mL 尿素氮标准液用蒸馏水稀释至 50μg/mL 备用。
3. 样品测定 (在 EP 管中加入下列试剂)

| 试剂名称 | 空白管 (μL) | 测定管 (μL) | 标准管 (μL) |
|---------|----------|----------|----------|
| 样本 | | 20 | |
| 蒸馏水 | 20 | | |
| 标准品 | | | 20 |
| AK384-A | 50 | 50 | 50 |
| AK384-B | 500 | 500 | 500 |

混匀, 沸水浴 10min, 冷却后, 从上述反应液中吸取 200μL 于 96 孔板/微量玻璃比色皿中测定 540nm 的吸光值。记为 A 空白管、A 标准管、A 测定管, 计算 ΔA 标准=A 标准管 -A 空白管, ΔA 测定=A 测定管-A 空白管。

注意: 空白管和标准管只需测定 1-2 次。

尿素氮含量计算：

1. 按照血清（浆）或者细胞培养液体积计算：

$$\text{尿素氮含量 (}\mu\text{g/mL)} = \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标准品} = 50 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准}$$

2. 按细胞数量计算：

$$\text{尿素氮含量 (}\mu\text{g/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标准品} \times V \text{ 提取} \div \text{细胞数量} = 50 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div \text{细胞数量}$$

3. 按照样本质量计算：

$$\text{尿素氮含量 (}\mu\text{g/g 鲜重)} = \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标准品} \times V \text{ 提取} \div W = 25 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W$$

4. 按照蛋白浓度计算：

$$\text{尿素氮含量 (}\mu\text{g/mg prot)} = \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标准品} \times V \text{ 提取} \div (Cpr \times V \text{ 提取}) = 50 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div Cpr$$

注：C 标准品：标准品浓度，50 $\mu\text{g/mL}$ ；V 提取：提取液体积，1mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细胞数量：以万计。