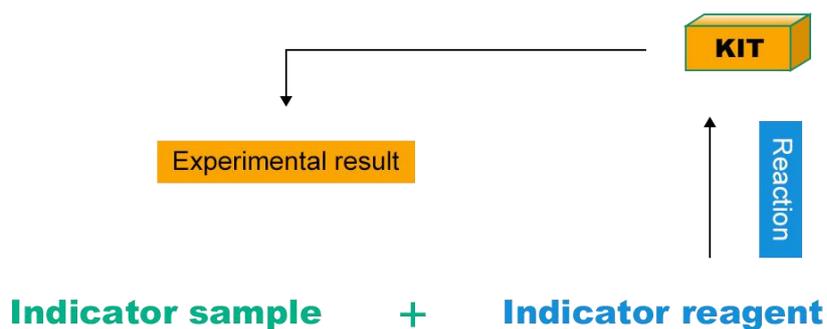


上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0480

Size: 100T/48S

## 尿素氮 (BUN) 检测试剂盒说明书

### 微量法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、测定意义:

尿素 (BUN) 是人体蛋白质代谢的主要终末产物, BUN 构成了血液中绝大部分的非蛋白质氮, 血液尿素氮是肾功能的主要指标之一。

#### 二、测定原理:

用靛酚蓝比色法测定脲酶水解尿素产生的  $\text{NH}_3\text{-N}$ , 生成的蓝色靛酚和尿素氮的浓度成正比。

#### 三、需自备的仪器和用品:

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

#### 四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	粉剂×2 瓶	4°C 避光保存	临用前加 2mL 蒸馏水充分溶解
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂三 A 液	液体 0.4mL×1 支	4°C 保存	
试剂三 B 液	液体 1.6mL×1 瓶	4°C 保存	临用前将 A 液倒入 B 液中混合, 或者根据比例 (A:B=1:4) 现用现配;
试剂四	液体 2mL×1 瓶	4°C 避光保存	
标准品	粉剂×1 瓶	4°C 保存	10mg 尿素。临用前加入 4.66mL 蒸馏水配制成 1mg/mL 尿素氮标准液。

## 五、操作步骤：

### ● 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) 冰上匀浆后于 4°C, 13000g 离心 15min, 取上清待测。
- (2) 细胞：按照细胞数量 ( $10^4$  个) : 蒸馏水体积 (mL) 为 500-1000: 1 的比例 (建议 500 万个细胞加入 1mL 蒸馏水), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 s, 间隔 7 s, 总时间 3min) ; 然后 4°C, 13000g 离心 15min, 取上清置于冰上待测。
- (3) 血清 (浆) 或其它液体：直接检测。

### ● 测定操作：

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min, 波长调至 630nm, 分光光度计蒸馏水调零。
- 2、将 1mg/mL 尿素氮标准液用蒸馏水稀释至 50  $\mu$ g/mL 备用。
- 3、加样表：

试剂名称 ( $\mu$ L)	空白管	标准管	测定管	对照管
样品			12	12
标准品		12		-
蒸馏水	12			24
试剂一	24	24	24	-
试剂二	44	44	44	44
充分混匀, 于 37°C 反应 10min,				
试剂三	16	16	16	16
试剂四	12	12	12	12
混匀, 室温静止 30min。				

蒸馏水	92	92	92	92
充分混匀后测定 630nm 处吸光值, 记为 A 空白管、A 标准管、A 测定管和 A 对照管。计算 $\Delta A$ 标准=A 标准管-A 空白管, $\Delta A$ 测定=A 测定管-A 对照管。				

## 六、计算公式:

(1) 按样本质量计算:

$$\text{尿素氮含量} (\mu\text{g/g}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{提取}} \div W = 50 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W。$$

(2) 按蛋白浓度计算:

$$\begin{aligned} \text{尿素氮含量} (\mu\text{g/mg prot}) &= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) \\ &= 50 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}。 \end{aligned}$$

(3) 按细胞数计算:

$$\begin{aligned} \text{尿素氮含量} (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{提取}} \div \text{细胞数量} \\ &= 50 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{细胞数量}。 \end{aligned}$$

(4) 按液体体积计算:

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

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

## 七、注意事项:

1. 配制好的试剂一在2-8°C条件下可保存一周。
2.  $\Delta A$ 测定大于1或者A测定管大于1时, 建议将样品用蒸馏水稀释后在进行测定。