

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-S0758

Size: 50T/24S

尿素氮 (BUN) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*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、天平、研钵/匀浆器、低温离心机、1ml 玻璃比色皿、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 5mL 蒸馏水充分溶解
试剂二	液体 15mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂三 A 液	液体 1mL × 1 支	4°C 保存	
试剂三 B 液	液体 4mL × 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 5mL × 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℃，12000g 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℃，12000g 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、分光光度计预热 30min，波长调至 630nm，蒸馏水调零。

2、将 1mg/mL 尿素氮标准液用蒸馏水稀释至 25 μ g/mL 备用。

3、加样表：

试剂名称（ μ L）	空白管	标准管	测定管	对照管
样品			60	60
标准品		60		—
蒸馏水	60			120
试剂一	120	120	120	—
试剂二	220	220	220	220
充分混匀，于 37℃反应 10min				
试剂三	80	80	80	80
试剂四	60	60	60	60
混匀，室温静止 30min。				

蒸馏水	460	460	460	460
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 ΔA 标准=A 标准管-A 空白管， ΔA 测定=A 测定管-A 对照管。				

六、计算公式：

(1) 按样本质量计算：

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

(2) 按蛋白浓度计算：

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

(3) 按细胞数计算：

$$\text{尿素氮含量 (}\mu\text{g}/10^4 \text{ cell)} = \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标准品} \times V \text{ 提取} \div \text{细胞数量}$$
$$= 25 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div \text{细胞数量}。$$

(4) 按液体体积计算：

$$\text{尿素氮含量 (g/mL)} = \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标准品} = 25 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准}。$$

C 标准品：标准品浓度，25 $\mu\text{g/mL}$ ；V 提取：提取液体积，1mL；W：样品质量，g；
C_{pr}：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℃ 条件下可保存一周。
2. ΔA 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。