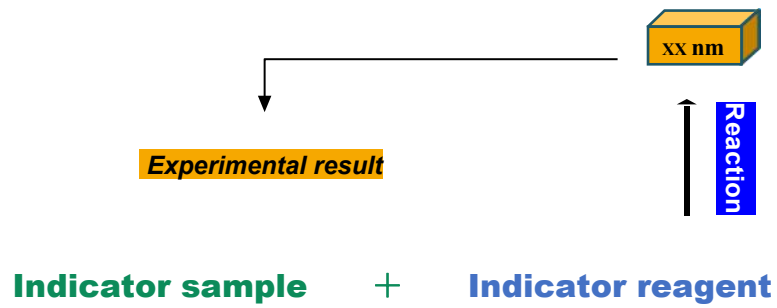


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

尿素氮 (BUN) 含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

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℃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℃保存	-
试剂三A 液	液体 1mL×1 支	4℃保存	-
试剂三B 液	液体 4mL×1 瓶	4℃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℃避光保存	-
标准品	粉剂×1 瓶	4℃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

产品说明：

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。用靛酚蓝比色法测定脲酶水解尿素产生的NH₃-N，生成的蓝色靛酚和尿素氮的浓度成正比

自备实验用品及仪器：

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。

操作步骤：

一、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 (10⁴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。

二、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 μg/mL 备用。
- 3、加样表：

试剂名称 (μL)	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°C 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。				

三、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：

$$\begin{aligned} \text{尿素氮含量 (}\mu\text{g/mg prot)} &= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) \\ &= 25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

3. 按细胞数计算：

$$\begin{aligned} \text{尿素氮含量 (}\mu\text{g}/10^4 \text{ cell)} &= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{提取}} \div \text{细胞数量} \\ &= 25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{细胞数量}。 \end{aligned}$$

4. 按液体体积计算：

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

C 标准品：标准品浓度，25 μg/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。

注意事项：

1. 配制好的试剂一在 2-8°C 条件下可保存一周。
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。