

尿素氮 (BUN) 含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: AC10330

规格: 100T/48S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×2 瓶	4°C保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存
试剂三 A 液	液体 3 mL×1 瓶	4°C保存
试剂三 B 液	液体 12 mL×1 瓶	4°C保存
试剂四	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存
标准品	粉剂×1 支	4°C保存

溶液的配制:

- 1、试剂一: 临用前加 5mL 蒸馏水充分溶解, 现用现配, 4°C可保存一周。
- 2、试剂三: 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。
- 3、标准品: 10 mg 尿素。临用前加入 4.66 mL 蒸馏水配制成 1 mg/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 $\text{NH}_3\text{-N}$, 生成的蓝色靛酚和尿素氮的浓度成正比。

技术指标:

最低检出限: 0.00009 $\mu\text{g/mL}$ 线性范围: 0.78125-100 $\mu\text{g/mL}$

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

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。

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)

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。

细菌或细胞: 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 3s, 间隔 7s, 总时间 3min); 然后 4°C, 13000g 离心 15min, 取上清置于冰上待测。

血清（浆）或其它液体：直接检测。

二、测定步骤

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25μg/mL备用。
3. 加样表：

试剂名称（μL）	空白管	标准管	测定管	对照管
样本			30	30
标准品		30		-
蒸馏水	30			60
试剂一	60	60	60	-
试剂二	110	110	110	110
充分混匀，于37°C反应10min				
试剂三	120	120	120	120
试剂四	90	90	90	90
充分混匀，37°C静置30min				
蒸馏水	90	90	90	90
充分混匀后，从上述反应液中吸取 200μL 于 96 孔板/微量玻璃比色皿中测定 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 $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ ， $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ 。				

三、计算公式

1. 按样本质量计算：

$$\text{尿素氮含量} (\mu\text{g/g 质量}) = \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times C_{标准品} \times V_{提取} \div W = 25 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W$$

2. 按蛋白浓度计算：

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

3. 按细胞数量计算：

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

4. 按液体体积计算：

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

C标准品: 标准品浓度, 25μg/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。

注意事项：

如果样本吸光值大于 1.5，建议将样本用蒸馏水稀释后进行测定。

相关发表文献：

[1] Xiaoguang Zhu, Jun Shi, Huicong li, et al. PVT1 knockdown alleviates vancomycin-induced acute kidney injury by targeting miR-124 via inactivation of NF-κB signaling. RSC advances. September 2018; (IF3.049)