

使用说明书

Instruction Manual

TargetMol
YOUR TARGET MOLECULES

尿素氮检测试剂盒（微量法）

BUN Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

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。

检测原理

在加热和强酸条件下，尿素氮与二乙酰肼缩合成红色的联吡嗪，其颜色深浅与尿素氮含量成正比，根据色泽的深浅可以计算出尿素氮含量。

产品组成及储存条件

100T/96S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0037M-A	100mL×1 瓶	4℃保存。
CB0037M-B	40mL×1 瓶	4℃保存，用时加双蒸水 80mL 配成酸应用液。
CB0037M-Standard (10umol/mL)	0.5mL×1 支	4℃保存。

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、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、离心机、恒温水浴锅。

二、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：直接检测或适当稀释。

三、测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 520nm，蒸馏水调零。
2. 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
CB0037M-A	1000	1000	1000
CB0037M-B 应用液	1000	1000	1000

混匀，准确沸水浴 15min，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 520nm 的吸光值。
记为 A 空白管、A 标准管、A 测定管，计算 $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ ， $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{空白管}$ 。

注：空白管和标准管只需要测定 1-2 次。

四、尿素氮含量计算：

- 按照血清（浆）或者细胞培养液体积计算：

尿素氮含量 (μmol/mL) = $\Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times C_{标准品} = 10 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}$

- 按细胞数量计算：

尿素氮含量 (μmol/10⁴ cell) = $\Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times C_{标准品} \times V_{提取} \div \text{细胞数量} = 10 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div \text{细胞数量}$

- 按照样本质量计算：

尿素氮含量 (μmol/g 鲜重) = $\Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times C_{标准品} \times V_{提取} \div W = 10 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W$

- 按照蛋白浓度计算：

尿素氮含量 (μmol/mg prot) = $\Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times C_{标准品} \times V_{提取} \div (C_{pr} \times V_{提取}) = 10 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr}$

注：C 标准品：标准品浓度，10μmol/mL；V 提取：提取液体积，1mL；W：样本质量，g；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；
细胞数量：以万计。

注意事项

- 比色前若发现沉淀，则可 3500 转/分离心 10 分钟。
- 颜色太深时，将样品作适当稀释，结果再乘以稀释倍数。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

