

尿素氮（尿素）含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：D100257

规格：50T/24S

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。

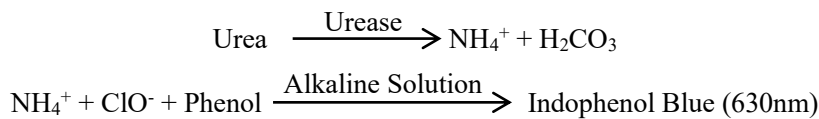
试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×2 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三 A 液	液体 1 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三 B 液	液体 4 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	液体 4 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 瓶	2-8°C保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前加 5 mL 蒸馏水充分溶解，现用现配，2-8°C可保存一周。
- 2、试剂三：根据样本量按照试剂三 A：试剂三 B=0.1mL：0.4mL（共 0.5mL，约 6T）的比例配制，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（相当于 2.146mg/mL 尿素），2-8°C可保存 4 周。
- 4、25µg/mL 尿素氮标准溶液（53.65µg/mL 尿素标准溶液）：取 25µL 1 mg/mL 尿素氮标准液和 975µL 蒸馏水混合配制，现用现配。

产品说明：

尿素氮（尿素）是人体蛋白质代谢的主要终末产物，构成了血液中绝大部分的非蛋白质氮，血液尿素氮（尿素）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氨，生成的蓝色靛酚和尿素氮（尿素）的浓度成正比。



技术指标：

最低检出限：0.000086 µg/mL（以尿素氮计）或者 0.000185 µg/mL（以尿素计）

线性范围：0.390625-50 µg/mL（以尿素氮计）或者 0.838-107.3 µg/mL（以尿素计）

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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、天平、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、低温离心机、1mL玻璃比色皿、恒温水浴锅、冰和蒸馏水。

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（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 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。若有浑浊离心后取上清测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min，波长调至630nm，蒸馏水调零。

2. 加样表：（在1.5mL EP管中加入下列试剂）

试剂名称（μL）	空白管	标准管	测定管	对照管
样本	-	-	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，37°C静置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 $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ ， $\Delta A = A_{测定管} - A_{对照管}$ 。标准管和空保管只需做 1-2 次。				

三、计算公式

1. 按样本质量计算：

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

$$\text{尿素含量 (}\mu\text{g/g 质量)} = \Delta A \div \Delta A_{标准} \times C_{尿素} \times V_{提取} \div W = 53.65 \times \Delta A \div \Delta A_{尿素} \div W$$

2. 按蛋白浓度计算：

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

$$\text{尿素含量 (}\mu\text{g/mg prot)} = \Delta A \div \Delta A_{标准} \times C_{尿素} \times V_{提取} \div (C_{pr} \times V_{提取}) = 53.65 \times \Delta A \div \Delta A_{尿素} \div C_{pr}$$

3. 按细胞数计算：

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

$$\text{尿素含量 (}\mu\text{g}/10^4 \text{ cell)} = \Delta A \div \Delta A_{标准} \times C_{尿素} \times V_{提取} \div N = 53.65 \times \Delta A \div \Delta A_{尿素} \div N$$

4. 按液体体积计算：

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

$$\text{尿素含量 (}\mu\text{g/mL)} = \Delta A \div \Delta A_{标准} \times C_{尿素} = 53.65 \times \Delta A \div \Delta A_{尿素}$$

$C_{\text{尿素氮}}$: 尿素氮浓度, $25\mu\text{g/mL}$; $C_{\text{尿素}}$: 尿素浓度, $53.65\mu\text{g/mL}$; $V_{\text{提取}}$: 提取时蒸馏水体积, 1mL ; W : 样本质量, g ; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL ; N : 细胞数量, 以万计。

注意事项:

如果样本吸光值大于1.3, 建议将样本用蒸馏水稀释后进行测定, 计算公式需同步乘以稀释倍数。