

尿素氮 (BUN) 试剂盒说明书

微量法 100T/96S

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。

测定意义

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。

测定原理

样本中尿素氮在氯化高铁一磷酸溶液中与二乙酰一肟和硫胺脲共煮，生成一种红色的二嗪化合物，其颜色的深浅与尿素氮含量成正比，采用二乙酰一肟法测定尿素氮含量。

自备实验用品及仪器

天平、研钵、常温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、恒温水浴锅。

试剂组成和配制

试剂一：液体 6mL×1 瓶，4℃避光保存，

试剂二：液体 60mL×1 瓶，4℃避光保存。

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 25℃，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。

测定操作

	空白管	测定管
样品 (μL)		20
H ₂ O (μL)	20	
试剂一 (μL)	50	50
试剂二 (μL)	500	500

混匀，沸水浴 10min，冷却后，540nm 下测定吸光值。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。空白管只要做一管。

尿素氮含量计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定回归方程为 $y = 2.048x + 0.0229$ ， $R^2 = 0.9943$ ；x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为吸光值。

1、按照血清（浆）或者细胞培养液体积计算

$$\text{尿素氮含量(mg/mL)} = (\Delta A - 0.0229) \div 2.048 = 0.4882 \times (\Delta A - 0.0229)$$

2、按照样本质量计算

$$\text{尿素氮含量 mg/g 鲜重} = (\Delta A - 0.0229) \div 2.048 \times V_{\text{样总}} \div W = 0.4882 \times (\Delta A - 0.0229) \div W$$

3、按照蛋白浓度计算

$$\text{尿素氮含量(mg/mg prot)} = (\Delta A - 0.0229) \div 2.048 \div C_{\text{pr}} = 0.4882 \times (\Delta A - 0.0229) \div C_{\text{pr}}$$

V 样总：加入提取液体积，1 mL； C_{pr}：样本蛋白质浓度，mg/mL； W：样本质量，g；

b.用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定回归方程为 $y = 1.024x + 0.0229$, $R^2 = 0.9943$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值。

1、按照血清 (浆) 或者细胞培养液体积计算

尿素氮含量(mg/mL) = $(\Delta A - 0.0229) \div 1.024 = 0.9766 \times (\Delta A - 0.0229)$

2、按照样本质量计算

尿素氮含量(mg/g 鲜重) = $(\Delta A - 0.0229) \div 1.024 \times V_{\text{样总}} \div W = 0.9766 \times (\Delta A - 0.0229) \div W$

3、按照蛋白浓度计算

尿素氮含量(mg/mg prot) = $(\Delta A - 0.0229) \div 2.048 \div C_{\text{pr}} = 0.9776 \times (\Delta A - 0.0229) \div C_{\text{pr}}$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。