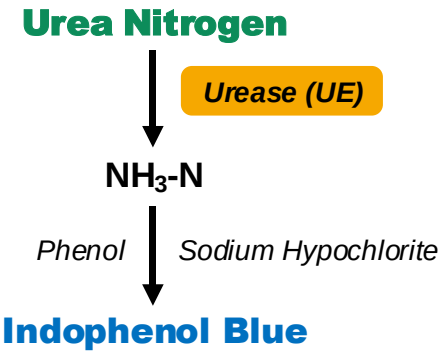
尿素氮含量检测试剂盒

Urea Nitrogen Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Catalog Number **AKNM002M**
Storage Temperature **2-8°C**
Size **120T/50S**

Microanalysis Methods

尿素氮含量检测试剂盒

Urea Nitrogen Content Assay Kit

一、产品描述

尿素氮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。血清尿素氮含量与肾小球功能密切相关，在一定程度上能够反映出肾小球的滤过功能，可作为衡量肾功能的主要指标之一。

脲酶水解尿素产生的 NH_3-N，在强碱性介质中能够与次氯酸盐和苯酚反应，生成水溶性蓝色染料靛酚蓝，产物在 630 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测尿素氮的含量。

二、产品内容

名称		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	**使用前每瓶加入 5 mL 蒸馏水充分溶解** （现用现配，4℃可保存一周）
试剂二		液体 15 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	**A 液**	液体 3 mL×1 瓶	4℃避光保存	**使用前将 A 液加入 B 液中充分混匀** （或按比例 A:B=1:4 现用现配，4℃可保存一周）
	B 液	液体 12 mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂四		液体 2 mL×1 瓶	4℃避光保存	**使用前加入 13 mL 蒸馏水充分混匀**
标准品		粉剂×1 支 （10 mg 尿素标准品）	4℃保存	**使用前加入 466 μL 蒸馏水充分溶解** （即为 10 mg/mL 尿素氮标准液）
标准稀释液的制备：将 10 mg/mL 尿素氮标准液使用蒸馏水稀释至 40、30、20、10、5、2.5 μg/mL 即为标准稀释液。				

序号	A	B	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μg/mL）	10000	1000	100	100	100	100	10	5
标准液体积（μL）	100	100	200	150	100	50	200	200
蒸馏水体积（μL）	900	900	300	350	400	450	200	200
稀释后浓度（μg/mL）	1000	100	40	30	20	10	5	2.5

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.样品处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：蒸馏水体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 蒸馏水）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 15 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（10^4 个）：蒸馏水体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 蒸馏水）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 15 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min，波长调至 630 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管（μL）	对照管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
待测样本	30	30	-	-
标准稀释液	-	-	30	-
蒸馏水	-	60	-	30
试剂一	60	-	60	60
试剂二	110	110	110	110
充分混匀，37℃准确反应 10 min				
试剂三	100	100	100	100
试剂四	100	100	100	100
充分混匀，37℃显色 30 min				
蒸馏水	100	100	100	100

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 630 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算ΔA 测定=A 测定-A 对照，ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以 40、30、20、10、5、2.5 μg/mL 标准稀释液浓度为横坐标（x），以其对应的ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 y=kx+b，将ΔA 测定带入公式中得到 x（μg/mL）。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.尿素氮含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{尿素氮含量（μg/g）} = \frac{x \times V_{提}}{W} = \frac{x}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

$$\text{尿素氮含量（μg/mg prot）} = \frac{x \times V_{提}}{Cpr \times V_{提}} = \frac{x}{Cpr}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{尿素氮含量（μg/}10^4\text{ cell）} = \frac{x \times V_{提}}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体体积计算

$$\text{尿素氮含量（μg/mL）} = \frac{x \times V_{液}}{V_{液}} = x$$

注释：V 提：待测样本总体积，1 mL；V 液：液体样本总体积，mL；W：样品质量，g；Cpr：样品蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

①若A测定超出标准吸光值线性范围：超出最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定；低于最低值可适当增加样本量重新制备待测样本后再进行测定，计算时相应修改；

②显色完成后应在1 h内完成测定，测定管颜色应与标准管颜色一致（蓝色），若显色为黄色或绿色，则表明NH_3-N浓度过高，应将待测样本适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio
Manufactured and Distributed by
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China
TEL: 400-805-8228
E-MAIL: techsupport@boxbio.cn
Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.