

## 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 (10<sup>4</sup> 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 <sub>2</sub> O (μL)	20	
试剂一 (μL)	50	50
试剂二 (mL)	500	500

混匀，沸水浴 10min，冷却后，540nm 下测定吸光值。ΔA=A 测定-A 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

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

V 样总：加入提取液体积，1 mL； C<sub>pr</sub>：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

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

2、按照样本质量计算

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

3、按照蛋白浓度计算

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

$V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1 mL;  $C_{\text{pr}}$ : 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。