

尿素氮（BUN）试剂盒说明书

分光光度法 50T/48S

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脒共煮，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、1mL 玻璃比色皿、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（ 10^4 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 ）		40
H ₂ O（ μL ）	40	
试剂一（ μL ）	100	100
试剂二（mL）	1000	1000

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：

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

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

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

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

V 样总：加入提取液体积，1 mL； Cpr：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。
