

尿素氮含量(二乙酰肼比色法) 检测试剂盒微板法

使用说明书

产品货号: BP10383W

注意: 请在试剂盒保质期内使用, 具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用, 不能用于临床诊断。

检测范围: 0.25-100mmol/L

灵敏度: 0.25mmol/L

有效期: 6个月

保存温度: 2-8℃

检测原理:

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（Fisons 复合物），其颜色的深浅与尿素氮含量成正比，采用二乙酰一肟法可测定尿素氮含量。

注意事项:

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
3. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
4. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

试剂盒组分：

试剂名称	规格（48T/46S）	规格（96T/94S）	保存条件
试剂一	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶	2-8℃，避光
试剂二	30mL×1 瓶	60mL×1 瓶	2-8℃，避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、水浴锅、蒸馏水。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.25-100mmol/L, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩, 样本稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本:** 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℃, 10000 g 离心 10min, 取上清待测。
4. **细胞样本:** 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℃, 10000 g 离心 10min, 取上清置于冰上待测。
5. **血清 (浆) 等液体样本:** 直接测定。若浑浊, 离心后取上清检测。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品溶液配制**: 向标准品中加入 1mL 蒸馏水，即为标准品母液（100mmol/L）。取 100 μ L 标准品母液和 900 μ L 蒸馏水混合配制成 10mmol/L 的标准品溶液，2-8 $^{\circ}$ C 可保存 2~3 天。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 540nm。
2. 样本测定 (在 EP 管中依次加入):

试剂名称(μ L)	标准管	测定管	空白管
10mmol/L 标准品	20		
样本		20	
蒸馏水			20
试剂一	50	50	50
试剂二	500	500	500

混匀, 沸水浴 10min (推荐使用防爆夹, 防止爆盖), 冷却后, 取 200 μ L 加入 96 孔板中, 在 540nm 处测定各孔 OD 值。

注: 标准管和空白管只需测定 1-2 管。

实验结果结算：

1. 按照血清（浆）或者细胞培养液体积计算：

$$\text{尿素氮含量 (mmol/L)} = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times N = 10 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times N$$

2. 按照样本质量计算：

$$\text{尿素氮含量 (mmol/g)} = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \div W \times N = 10 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times N$$

3. 按照蛋白浓度计算：

$$\text{尿素氮含量 (mmol/mg prot)} = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times N = 10 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times N$$

注：

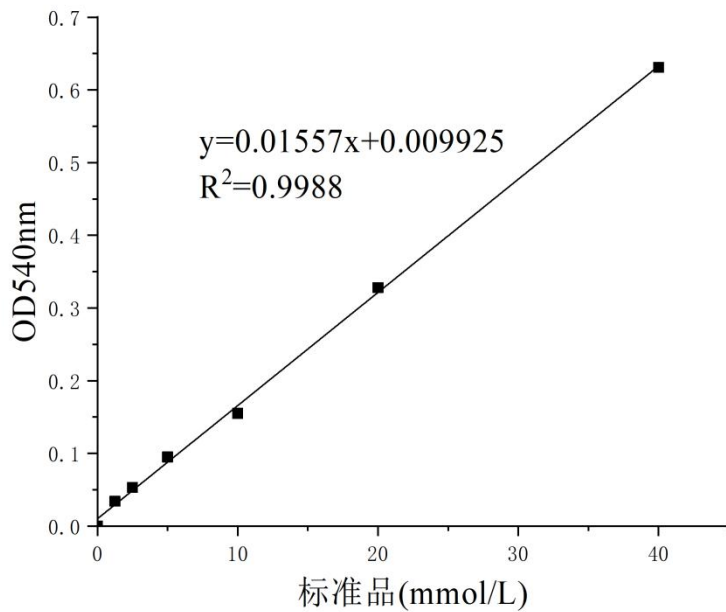
$\Delta A_{\text{测定}}$ ：测定孔 OD 值-空白孔 OD 值 $\Delta A_{\text{标准}}$ ：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值

$C_{\text{标准}}$ ：标准液浓度，10mmol/L； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL。

N：样本的稀释倍数； W：样品质量，g

参考曲线:

$y=0.01557x+0.009925, R^2=0.9988$, x 是标准品浓度 (mmol/L), y 是 ΔA 。



注意: 标准曲线仅供参考, 用户不用制作。