

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：E-BC-K145-S

产品规格：50 assays(48 samples)/ 100 assays(96 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计 (635 nm)

Elabscience®血氨比色法测试盒

Blood Ammonia Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

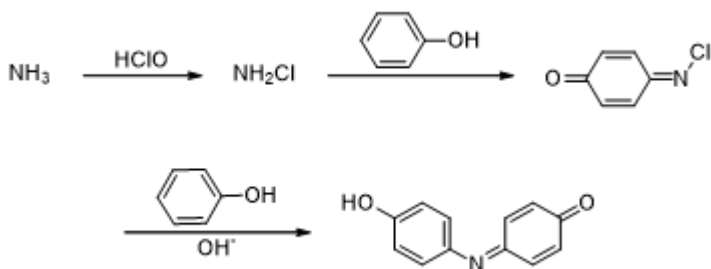
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）样本中的氨含量。

检测原理

用蛋白沉淀剂沉淀血液蛋白质，并破坏酶活性，防止离体后产生游离氨，同时除去大部分干扰显色物质，用 Berthelot 反应使无蛋白滤液中形成靛蓝，颜色深浅与血氨含量成正比，与标准液比较测定血液氨含量。其检测原理如下图：



提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	酸试剂 (Acid Reagent)	35 mL×1 瓶	35 mL×2 瓶	2-8°C 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8°C 避光 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8°C 避光 保存 3 个月
试剂四 (Reagent 4)	7 mmol/L 标准品 (7 mmol/L Ammonia Standard)	2 mL×1 瓶	2 mL×1 瓶	2-8°C 保存 3 个月
试剂五 (Reagent 5)	标准品稀释液 (Standard Diluent)	50 mL×1 瓶	50 mL×1 瓶	2-8°C 保存 3 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，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。

所需自备物品

仪器：紫外-可见分光光度计（635 nm）、恒温箱

试剂：双蒸水或生理盐水（0.9% NaCl）

试剂准备

① 检测前，试剂需平衡至室温

② 0.35 mmol/L 标准品应用液的配制：

将试剂四与试剂五，按体积比 1:19 稀释，混匀即可。

样本准备

① 样本处理

血清样本：直接测定。

样本要求：① 红细胞中氮含量比血浆高 2.8 倍，故检测时样本需避免溶血，避免红细胞内的氮进入血浆。

② 由于血样离体后谷氨酰胺和多肽易水解释放出氮，故样本取样后需及时检测，在 2-8℃ 保存 2-4 h，在 -20℃ 保存 24 h。

③ 取样后要及时密封，避免氮的溢出。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.01-2.0 mmol/L，参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	2-6	大鼠血清	不稀释
兔血清	不稀释	小鼠血清	不稀释

注：稀释液为双蒸水或生理盐水(0.9% NaCl)。

实验关键点

- ① 实验器具必须干净，避免器具引入污染。
- ② 试剂二与试剂三不能先混合后使用。
- ③ 蛋白沉淀离心后的上清液必须澄清。
- ④ 蛋白沉淀离心后，必须 20 min 内取上清进行显色反应。
- ⑤ 必须在 20 min 内，完成吸光度的测定。

操作步骤

- ① 空白管：取 0.2 mL 试剂五，加入至 1.5 mL EP 管中；
标准管：取 0.2 mL 0.35 mmol/L 标准品应用液，加入至 1.5 mL EP 管中；
测定管：取 0.2 mL 待测样本，加入至 1.5 mL EP 管中。
- ② 向步骤①各管中，加入 0.6 mL 试剂一，涡旋混匀，1100 ×g，离心 10 min。（离心后必须 20 min 内进行显色反应）
- ③ 取步骤②各管中 0.4 mL 上清，加入相应的 5 mL EP 管中。
- ④ 向步骤③各管中，依次加入 1.0 mL 试剂二、1.0 mL 试剂三，涡旋混匀。（试剂二与试剂三不能先混合后使用。）
- ⑤ 37°C 温育 30 min，635 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管 OD 值。（由于显色的稳定时间短，必须在 20 min 内测量完毕）。

操作表

	空白管	标准管	测定管
试剂五(mL)	0.2	--	--
0.35 mmol/L 标准品应用液(mL)	--	0.2	--
样本(mL)	--	--	0.2
试剂一(mL)	0.6	0.6	0.6
充分混匀，1100 ×g 离心 10 min，取上清进行显色			
上清液(mL)	0.4	0.4	0.4
试剂二(mL)	1.0	1.0	1.0
试剂三(mL)	1.0	1.0	1.0
混匀后，37°C 温育 30 min，635 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管 OD 值。			

结果计算

血氨含量计算公式：

$$\text{血氨含量 (mmol/L)} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f$$

注解：

ΔA_1 ：样本 OD 值-空白 OD 值

ΔA_2 ：标准 OD 值-空白 OD 值

c：标准品浓度 (0.35 mmol/L)

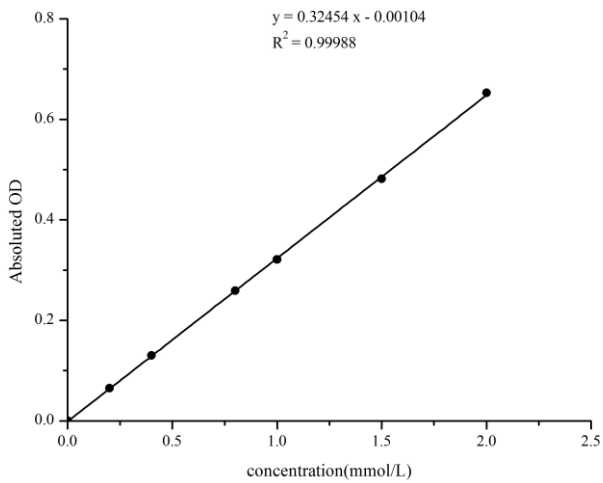
f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.01-2.0 mmol/L	平均批间差	5.0 %
灵敏度	0.01 mmol/L	平均批内差	4.7 %
回收率	104 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

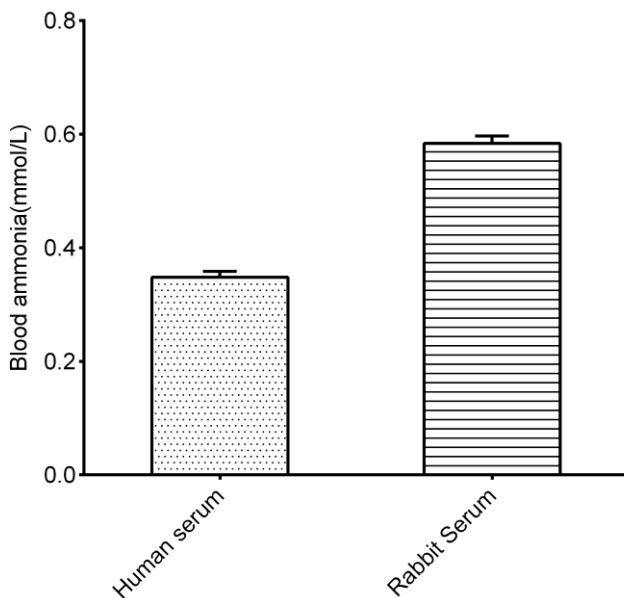
例如检测人血清(数据仅供参考):

直接取0.2 mL稀释4倍的人血清,按操作表检测,结果如下:

空白管OD值为0.008,标准管OD值为0.105,测定管OD值为0.032,标准管浓度为0.35 mmol/L,计算结果为:

$$\text{血氨含量 (mmol/L)} = \frac{0.032-0.008}{0.105-0.008} \times 0.35 \times 4 = 0.346 \text{ mmol/L}$$

按照操作过程,测定人血清(稀释倍数4,加样量0.2 mL)和兔血清(加样量0.2 mL)中血氨含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测值不稳定，变化比较大	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
样本测量结果 >2 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长
空白及标准品 OD 值偏高	器皿被污染	重新清洗器皿
	反应时间过长	严格控制反应时间 30 min
样本测定结果偏高	上清液浑浊	浑浊上清液再次离心
	未及时测量	必须 20 min 内测量完毕

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于于样本中待测物的浓度范围。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。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Zhang X, He C, Chen Y, et al. Cyclic reactions-mediated self-supply of H₂O₂ and O₂ for cooperative chemodynamic/starvation cancer therapy[J]. *Biomaterials*, 2021, 275:120987-. IF:12.479
2. Xia H, Scholtes C, Dufour CR, et al. Insulin action and resistance are dependent on a GSK3 β -FBXW7-ERR α transcriptional axis. *Nat Commun.* 2022; 13 (1):2105. IF:14.919
3. Liu Q, Zhang T X, Zheng Y D, et al. Calixarene-Embedded Nanoparticles for Interference-Free Gene-Drug Combination Cancer Therapy[J]. *Small*, 2021, 2006223. IF:11.459
4. He C, Zhang X, Chen C, et al. A solid lipid coated calcium peroxide nanocarrier enables combined cancer chemo/chemodynamic therapy with O₂/H₂O₂ self-sufficiency[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 122. IF:8.203
5. Chen L, Tao F, Zhang Y, et al. Islet-cell autoantigen 69 accelerates liver regeneration by downregulating Tgfb1 and attenuating Tgf β signaling in mice[J]. *FEBS Letters*, 2020, 594(17). IF:6.665
6. Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2021:2001133. IF:5.914
7. Wang C, Ma C, Fu K, et al. Phillygenin Attenuates Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis via Modulating Inflammation and Gut Microbiota[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 9, 21. IF:5.81
8. Du Y Q, Zheng Y Z, Yu C X M, et al. The Mechanisms of Yu Ping Feng San in Tracking the Cisplatin-Resistance by Regulating ATP-Binding Cassette Transporter and Glutathione S-Transferase in Lung Cancer Cells[J].*Frontiers in Pharmacology*, 2021; 12: 678126. IF:5.81
9. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. *Pharmacological Research*, 2019, 147, 104357. IF:5.574
10. Cao X, Liang Y, Liu R, et al. Uncovering the Pharmacological Mechanisms of Gexia-Zhuyu Formula (GXZY) in Treating Liver Cirrhosis by an Integrative Pharmacology Strategy. *Front Pharmacol.* 2022; 13:793888. IF:5.331
11. Wang Y, Xie W, Feng Y, et al. Epithelial-derived exosomes promote M2 macrophage

polarization via Notch2/SOCS1 during mechanical ventilation. *Int J Mol Med.* 2022; 50 (1).
IF:5.314

12. Jung D S, Son Y J, Shin J M, et al. Gymnaster Koraiensis Extract Alleviated Metabolic Syndrome Symptoms and Stimulated UCP1-Independent Energy Consumption via AMPK Activation in White Adipose Tissue[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2020. IF:5.309
13. Ali A K, Komal A K, Almutairi S M, et al. Natural killer cell-derived IL-10 prevents liver damage during sustained murine cytomegalovirus infection[J]. *Frontiers in immunology*, 2019, 10: 2688. IF:5.085
14. Xu Y , Zhang Y , Xu Y , et al. Activation of CD137 signaling promotes macrophage apoptosis dependent on p38 MAPK pathway-mediated mitochondrial fission[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2021 Jul;136:106003. IF:5.085
15. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. *Life Sciences* 266 (2021) 118876. IF:5.037
16. Ahmed A E, Alshehri A, Al-Kahtani M A, et al. Vitamin E and selenium administration synergistically mitigates ivermectin and doramectin-induced testicular dysfunction in male Wistar albino rats[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 124: 109841. IF:4.545
17. Su S, Tian H, Jia X, et al. Mechanistic insights into the effects of SREBP1c on hepatic stellate cell and liver fibrosis[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
18. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
19. Dejan Lazić, Andreas Scheurer, Dušan Čočić, et al. New bis-pyrazolylpyridine ruthenium(III) complex as a potential anticancer drug: In vitro and in vivo activity in murine colon cancer[J]. *Dalton Transactions*, 2021 Jun; 50(22):7686-7704. IF:4.39
20. Li X, Lv Z, Chen J, et al. *Bacillus amyloliquefaciens* B10 can alleviate liver apoptosis and oxidative stress induced by aflatoxin B1[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2021, 151:112124. IF:4.06