（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-K329-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（520 nm）

Elabscience®尿素(BUN)比色法测试盒(二乙酰肟法)

Urea (BUN) Colorimetric Assay Kit

(Diacetyl Oxime Method)

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。

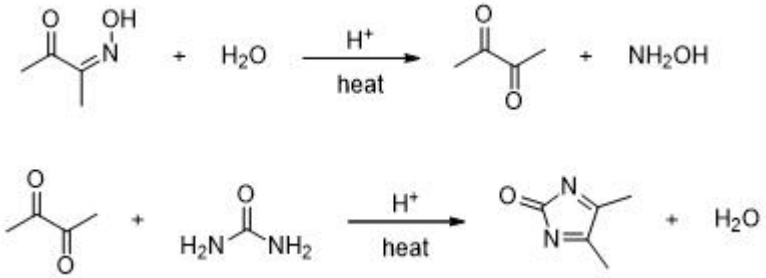
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、唾液、尿液中的尿素含量。

检测原理

尿素与二乙酰在酸性反应环境中加热缩合成色素原二嗪化合物，其显色的深浅与尿素含量成正比，由于二乙酰不稳定，故通常在反应体系中先由二乙酰一肟与强酸作用，产生二乙酰，再与尿素反应，缩合成红色的二嗪化合物。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)	肟溶液 (Oxime Solution)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8℃避光保存6个月
试剂二 (Reagent 2)	酸溶液 (Acid Solution)	20 mL×1 瓶	40 mL×1 瓶	2-8℃避光保存6个月
试剂三 (Reagent 3)	10 mmol/L 尿素标准品 (10 mmol/L Urea Standard)	1 mL×1 支	1 mL×1 支	2-8℃ 保存6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-可见光分光光度计（520 nm）、涡旋混匀仪、水浴锅

耗材：保鲜膜、吸水纸、擦镜纸

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）

试剂准备

① 试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 标准品如分几次测定，可将其分装成几管保存。

③ 试剂二应用液的配制：

将试剂二：双蒸水按1: 2的体积比混匀，现配现用。

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本：直接检测。

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（0.12-15 mmol/L），请参考下表稀释：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人尿液	45-60	小鼠血清	不稀释
人血浆	不稀释	大鼠尿液	45-60
人血清	不稀释	兔血浆	不稀释
人唾液	不稀释		

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

实验关键点

① 置沸水浴前，玻璃试管口用保鲜膜封住混匀后，扎一个小孔。

② 沸水浴时，沸水液面高于玻璃试管内试剂液面。

③ 沸水浴时间应严格控制，沸水浴后应立即用流水冷却。

操作步骤

① 检查水浴锅液位，设置温度为 100℃，开始加热。

② 空白管：取 20 μL 双蒸水加入到 5 mL 玻璃试管中；
标准管：取 20 μL 10 mmol/L 尿素标准品加入到 5 mL 玻璃试管中；
测定管：取 20 μL 待测样本加入到 5 mL 玻璃试管中。

③ 向步骤②各管中，分别依次加入 1000 μL 试剂一，1000 μL 试剂二应用液，用保鲜膜将试管口扎紧，涡旋混匀后，扎一个小孔，置沸水中水浴 15 min 后立即用流水冷却。

④ 用紫外-可见光分光光度计在 520 nm 波长处，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定其吸光度。

操作表

	空白管	标准管	测定管
双蒸水(μL)	20	--	--
10 mmol/L 尿素标准(μL)	--	20	--
待测样本(μL)	--	--	20
试剂一(μL)	1000	1000	1000
试剂二应用液(μL)	1000	1000	1000
混匀，置沸水中水浴 15 min 后立即用流水冷却，520 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。			

结果计算

尿素含量计算公式：

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

注解：

ΔA_1：测定 OD 值-空白 OD 值

ΔA_2：标准品 OD 值-空白 OD 值

c：标准品浓度（10 mmol/L）

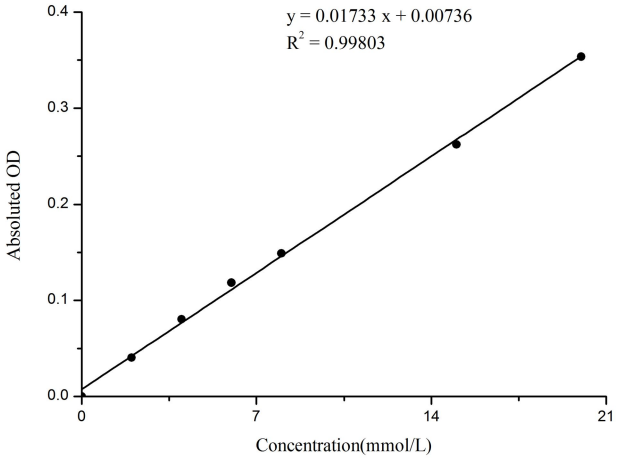
f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.12-15 mmol/L	平均批间差	9.9 %
灵敏度	0.12 mmol/L	平均批内差	4.9 %
平均回收率	101 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

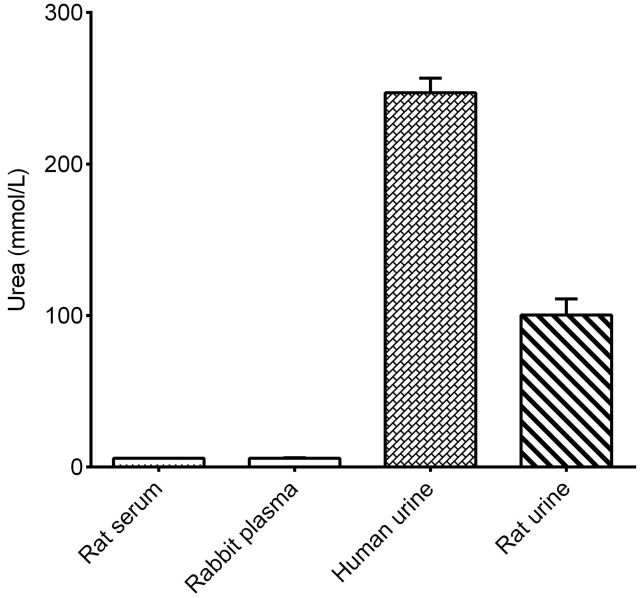
例如检测大鼠血清(数据仅供参考)：

取0.02 mL大鼠血清，按操作表操作，结果如下：

空白管平均OD值为0.004，标准管平均OD值为0.343，测定管平均OD值为0.199，计算结果为：

$$\text{尿素含量（mmol/L）}=\frac{0.199-0.004}{0.343-0.004}\times10\times1=5.75\ \text{mmol/L}$$

按说明书操作，测定大鼠血清（加样量20 μL）、兔血浆（加样量20 μL）、人尿液（稀释倍数50，加样量20 μL）及大鼠尿液（稀释倍数50，加样量20 μL）中尿素含量（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	沸水液面没有高于玻璃试管内试剂液面	沸水液面应该高于玻璃试管内试剂液面
	沸水浴后没有立即用流水冷却或者冷却不充分	沸水浴后立即流水冷却，并保证每支试管都充分冷却
样本和标准品显色很低	沸水浴时间未按说明书进行	严格控制沸水浴时间为 15 min
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
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>15 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测

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同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. 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
3. 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
4. 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
5. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in Micropterus salmoides[J]. Frontiers in Physiology, 2019, 10. IF:3.367
6. Chang X, Zhang P, Xu X X, et al. Total Glucosides of Paeony Inhibited Autophagy and Improved Acute Kidney Injury Induced by Ischemia-Reperfusion via the lncRNA TUG1/miR-29a/PTEN Axis[J]. Dove Press, 2021. IF:3.349
7. Al-Kuraishy H M, Al-Gareeb A I, Al-Naimi M S. Renoprotective effect of irbesartan in a rat model of gentamicin-induced nephrotoxicity: Role of oxidative stress[J]. Journal of laboratory physicians, 2019, 11(3): 200.