

(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-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(600-660 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。

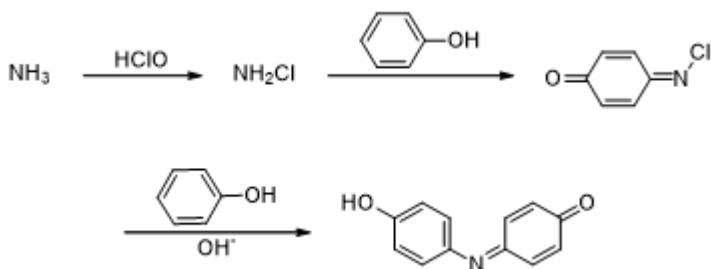
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

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)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	酸试剂 (Acid Reagent)	20 mL×1 瓶	40 mL×1 瓶	2-8°C 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	2-8°C避光 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 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 Standard)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×1 支	2-8°C 保存 3 个月
试剂五 (Reagent 5)	标准品稀释液 (Standard Diluent)	30 mL×1 瓶	30 mL×1 瓶	2-8°C 保存 3 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同试剂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：酶标仪（600-660nm，最佳检测波长 635 nm）、恒温箱

试剂：双蒸水或生理盐水（0.9% NaCl）

试剂准备

- ① 试剂平衡至室温。
- ② 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.2	0.4	0.8	1.0	1.5	2.0	2.5
7 mmol/L 标准品(μ L)	0	10	20	40	50	75	100	125
试剂五(μ L)	350	340	330	310	300	275	250	225

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°C 保存 2-4 h，在 -20°C 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：0.01-2.5 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	不稀释	人血浆	不稀释
小鼠血清	不稀释	大鼠血浆	不稀释
狗血清	不稀释	马血清	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。

操作步骤

- ① 标准管：取 100 μL 各浓度标准品应用液，加入至 1.5 mL EP 管中；
测定管：取 100 μL 待测样本，加入至 1.5 mL EP 管中。
- ② 向步骤①各管中，加入 300 μL 试剂一，涡旋混匀，1100 $\times\text{g}$ ，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 40 μL 上清，加入到酶标板孔中。
- ④ 向步骤③各酶标板孔中，依次加入 120 μL 试剂二和 120 μL 试剂三。（试剂二与试剂三不能先混合后使用。）
- ⑤ 酶标仪上振板 5 s，37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 25 min，酶标仪 635 nm 测定 OD 值。

操作表

	标准管（孔）	测定管（孔）
各浓度标准品应用液（ μL ）	100	--
样本（ μL ）	--	100
试剂一（ μL ）	300	300
涡旋混匀，1100 $\times\text{g}$ 离心 10 min，取上清液添加到酶标板中		
上清液（ μL ）	40	40
试剂二（ μL ）	120	120
试剂三（ μL ）	120	120
酶标仪上振板 5 s，37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 25 min，酶标仪 635 nm 测定 OD 值。		

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清、血浆等液体中血氨含量计算公式:

$$\begin{array}{l} \text{血氨含量} \\ (\text{mmol/L}) \end{array} = (\Delta A_{635} - b) \div a \times f$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值 (标准品浓度为 0 的 OD 值)

x: 吸光度对应的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

ΔA_{635} : 样本测定 OD 值-空白 OD 值

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

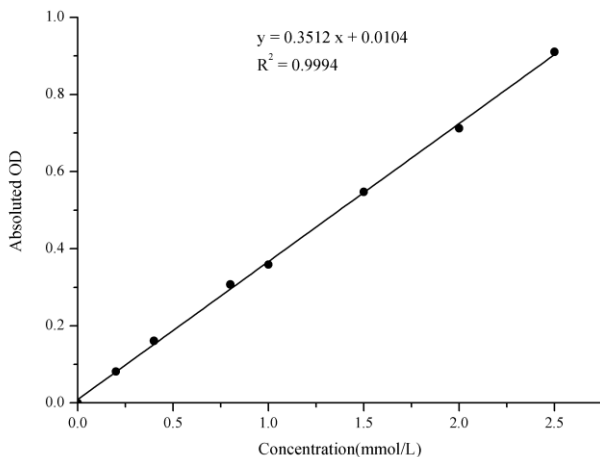
检测范围	0.01-2.5 mmol/L	平均批间差	7.2 %
灵敏度	0.01 mmol/L	平均批内差	4.1 %
回收率	103 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量100 μL ，按照操作步骤进行实验，读取各点OD值如下表所示：

标准品浓度 (mmol/L)	0.0	0.2	0.4	0.8	1.0	1.5	2.0	2.5
OD 值	0.053	0.130	0.213	0.348	0.416	0.575	0.791	0.977
	0.053	0.135	0.211	0.343	0.432	0.596	0.755	0.892
平均 OD 值	0.053	0.132	0.212	0.346	0.424	0.586	0.773	0.934
绝对 OD 值	0.000	0.079	0.159	0.292	0.371	0.532	0.720	0.881

②绘制标曲(如下图)：



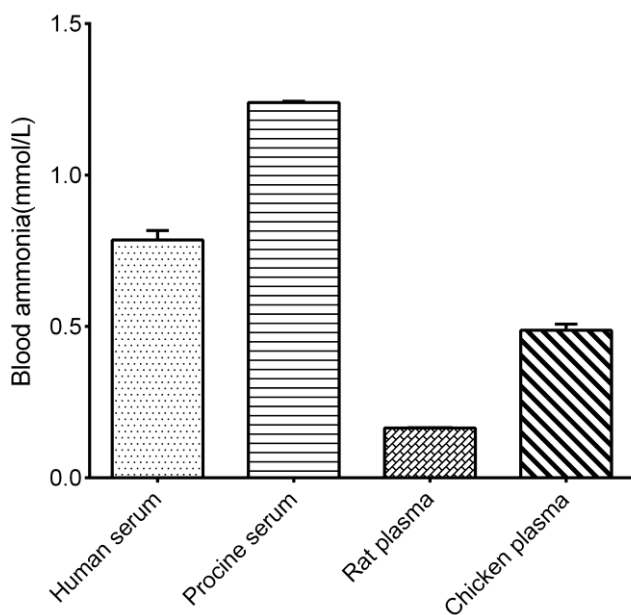
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取100 μL 的人血清,按操作表检测,结果如下:血氨的标准曲线: $y = 0.3198x - 0.0124$,测定孔平均OD值为0.314,空白OD值为0.050,计算结果为:

$$\text{血氨浓度 (mmol/L)} = (0.314 - 0.050 + 0.0124) \div 0.3198 = 0.86 \text{ mmol/L}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量100 μL)、猪血清(加样量100 μL)、大鼠血浆(加样量100 μL)和鸡血浆(加样量100 μL)中的血氨浓度(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 >2.5 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	酶标板被污染	更换酶标板重新检测
	反应时间过长	严格控制反应时间 25 min
样本测定结果偏高	上清液浑浊	浑浊上清液再次离心
	样本溶血	取新鲜样本，重新进行检测

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. 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-pyrazolopyridine 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
21. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al. Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. *Gene*, 2020, 768(7):145288. IF:3.688

