

尿素检测试剂盒(显色法)

产品编号	产品名称	包装
S0574S	尿素检测试剂盒(显色法)	100次
S0574M	尿素检测试剂盒(显色法)	500次

产品简介:

- 碧云天的尿素检测试剂盒(显色法) (Urea Assay Kit, Colorimetric), 也称尿素氮检测试剂盒(Urea Nitrogen Assay Kit, or BUN Assay Kit), 是一种基于靛酚法, 借助吸光度检测, 快速、高灵敏地对血清、血浆、尿液等各种生物体液、组织、细胞以及组织或细胞培养上清样品中尿素含量进行检测的试剂盒。通常0.5-5μl血清或血浆样品就足够用于本试剂盒的荧光法检测。
- 尿素(Urea), 又称碳酰胺(Carbamide), 分子式为CH₄N₂O, 分子量为60.06, 是由碳、氮、氧、氢组成的最简单的有机化合物之一。血液尿素氮(Blood Urea Nitrogen, BUN), 是指血液中尿素中的氮含量。尿素浓度可以用尿素或尿素氮表示, 很多人习惯使用尿素氮, 但更推荐使用尿素[1]。尿素主要在肝脏中产生, 并由肾脏排泄, 在动物含氮化合物的代谢中起着重要作用, 是大多数动物氮代谢的主要终产物, 也是哺乳动物尿液中含氮的主要物质。生物体将二氧化碳、水、天冬氨酸和氨等化学物质通过尿素的合成代谢, 即尿素循环(Urea cycle)合成尿素。人体摄入的蛋白质和氨基酸经过分解代谢, 产生的含氮废物具有毒性, 这类含氮化合物在肝脏中转化为尿素。随后尿素进入血液, 主要通过肾脏随尿排出, 少量随汗液排出[2]。
- 血液中的尿素含量是反映肾功能状况的主要生化指标之一。当人体摄入蛋白质时, 在体内代谢后可生成较多的尿素氮。如果肾功能受到损伤, 尿素氮不能较好地随尿排出, 血液的尿素浓度就会增高, 即肾性增高, 可能导致急性肾炎、慢性肾炎、中毒性肾炎、严重肾盂肾炎、肾结核、肾血管硬化症、先天性多囊肾和肾肿瘤等肾功能障碍。此外, 尿素水平也可能因某些药物(如皮质类固醇)的治疗、脱水或充血性心力衰竭导致的肾小球滤过率下降而升高。血尿素水平下降则可能与肝脏疾病或营养不良有关。血液中尿素含量的检测尤其是对尿毒症的诊断具有特殊价值[3]。人体血液中尿素的正常参考值约为1.7-8.3mmol/L (10.2-49.8mg/dl, 相应的尿素氮约为4.8-23.2mg/dl), 尿液的正常参考值约为110-390mmol/L (0.66-2.3g/dl, 相应的尿素氮约为0.3-1.1g/dl, 按24小时1.5L尿液计算)。
- 本试剂盒的检测原理请参考图1。尿素在脲酶(Urease, 也称脲酶)的作用下生成二氧化碳(CO₂)和氨气(NH₃), 生成的氨气和次氯酸盐(OCl⁻)形成氯胺(Monochloramine), 氯胺进一步与酚(Phenol)反应形成蓝色的吲哚酚(Indophenols)。吲哚酚在670nm左右有最大吸收峰, 吲哚酚的生成量与样品中尿素的含量成正比, 通过测定670nm处的吸光度就可以非常灵敏地检测样品中尿素的含量。

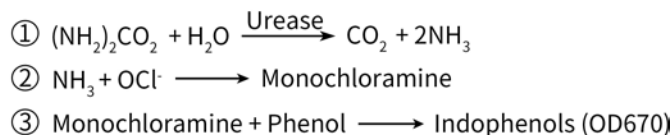


图1. 碧云天尿素检测试剂盒(显色法) (S0574)检测原理图。

- **本试剂盒检测灵敏度高, 线性范围宽, 样品用量少。**本试剂盒在样品体积为50μl时, 可以检测浓度低至0.02mM的尿素, 在0.02-2mM (0.12-12mg/dl, 或尿素氮0.056-5.6mg/dl)浓度范围内有良好的线性关系。本试剂盒提供了尿素标准溶液, 可以通过绘制标准曲线, 计算出样品中的尿素含量。本试剂盒的检测效果, 请参考图2。

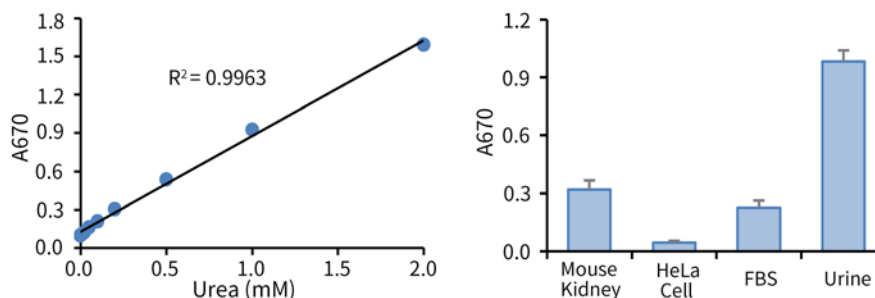


图2. 碧云天尿素检测试剂盒(显色法) (S0574)检测尿素标准品和不同样品的效果。50μl图中浓度的尿素标准品和稀释后的小鼠肾脏裂解上清、HeLa细胞裂解液、FBS和尿液样品, 加入10μl Enzyme Solution工作液并混匀, 37°C反应30分钟, 再加入150μl 尿素反应工作液, 混匀后37°C避光孵育30分钟, 测定A670。左图为本试剂盒对尿素标准品的检测效果图, 在0.02-2mM浓度范围内有良好线性关系; 右图为检测32μg蛋白量的小鼠肾脏裂解样品(Mouse Kidney)、18μg蛋白量的HeLa细胞裂解样品(HeLa Cell)、2μl胎牛血清(FBS)和0.2μl尿液(Urine)的效果图。实际检测数据会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据

仅供参考。

- **本试剂盒操作简单，检测速度快。**本试剂盒可快速、简便地测定样品中的尿素的含量，不需要洗涤和试剂转移等步骤。整个检测过程约1小时即可完成。
- **本试剂盒应用范围广。**本试剂盒可用于小鼠、大鼠等实验动物及人类的血清、血浆、尿液等生物体液，细胞培养上清、组织或细胞样品等的检测。本试剂盒不仅适合少量样品的检测，也非常适合高通量筛选(High-throughput screening)的自动化操作系统。
- 按照使用说明操作，用于96孔板检测时，本试剂盒小包装和中包装分别可以进行100次和500次检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
S0574S-1	Urea Assay Buffer	25ml
S0574S-2	Detection Reagent A	5ml
S0574S-3	Detection Reagent B	10ml
S0574S-4	Enzyme Solution (20X)	50μl
S0574S-5	Urea Standard (20mM)	200μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
S0574M-1	Urea Assay Buffer	125ml
S0574M-2	Detection Reagent A	25ml
S0574M-3	Detection Reagent B	50ml
S0574M-4	Enzyme Solution (20X)	250μl
S0574M-5	Urea Standard (20mM)	1ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20℃保存，一年有效。其中Detection Reagent A和Detection Reagent B须避光保存。

注意事项：

- Assay Reagent B在空气中不太稳定，开启后应尽快使用，且在使用过程中需注意适当避光。
- 请确保反应体系的pH值在7.0左右，即需要确保样品的pH不会对反应体系的pH产生很大的影响，否则会影响尿素的测定。如有必要，可以调整样品的pH后，再使用本试剂盒进行检测。
- Urea Assay Buffer、Detection Reagent A和Detection Reagent B需要完全解冻并平衡至室温后再使用，否则会影响检测结果。其它各种溶液使用时应在冰上进行。
- 经测试，本试剂盒相对稳定，检测所得的尿素标准曲线的线性范围等通常和本说明书中的描述一致，但是实际效果可能会因为实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，例如最高浓度点的数据偏低或不在线性范围内等，通常可以舍去异常点的数据，取在线性范围内的数据来拟合标准曲线。
- 血清、血浆等样品如在4℃保存，保存的时间不得超过2周，否则会影响检测结果的准确性。通常血清样品宜在-20℃保存，-80℃保存更佳。
- Detection Reagent A和Detection Reagent B对人体有害或有刺激性，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 样品的准备。

- 血液样品的准备：对于血清样品，将全血在常温如25℃下放置30分钟-2小时，不要剧烈摇晃以免溶血，待全血自然凝固并析出血清后，4℃约1000-2000×g离心10分钟，取黄色上清即得血清，注意不要吸取白色或淡黄色沉淀；对于血浆样品，将全血用肝素或者EDTA进行抗凝，4℃约1000-2000×g离心10分钟，取黄色或淡黄色上清即得血浆，注意不要吸取白色沉淀。血清和血浆都需置于冰上，如果不能立即检测，也可以分装并短期保存于-20℃或-80℃。对于冻存的样品，在检测前解冻后冰浴存放备用，使用前必须混匀。
- 细胞或组织样品的准备：对于培养的贴壁细胞，PBS (C0221A)洗涤一次并吸净残留液体。对于培养的悬浮细胞，先适当离心(如100-500×g，5分钟)收集细胞到离心管内，弃上清并吸净残留液体。按照每100万细胞加入100-200μl Urea Assay Buffer的比例加入裂解液，适当吹打，冰浴5-10分钟以充分裂解细胞。如果细胞裂解效果欠佳，可以参考后续组织样品的处理方式适当匀浆。随后4℃约12,000×g离心3-5分钟，取上清用于后续检测。对于组织样品，按照每10mg组织加入100μl Urea Assay Buffer的比例，使用TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48) (E6618)、TissueMaster™手持式组织研磨仪

(E6600/E6607)或玻璃匀浆器在约4°C或冰浴等低温条件下进行匀浆。4°C约12,000×g离心3-5分钟，取上清用于后续检测。

以上所有操作均需在4°C或冰上操作。制备好的细胞或组织样品如果不能立即检测，可以-20°C或-80°C冻存。

c. 细胞培养上清样品的准备：对于贴壁细胞，直接取培养液；对于悬浮细胞，离心取培养液。

2. 试剂盒的准备。

- 融解Urea Assay Buffer、Detection Reagent A和Detection Reagent B，平衡至室温后混匀备用。其它试剂存放于冰浴备用，使用完毕后宜立即按照试剂盒要求的条件保存。
- Enzyme Solution工作液的配制：按照每个反应10μl的体积配制适量的Enzyme Solution工作液。取适量的Enzyme Solution (20X)，按照1:19的比例用Urea Assay Buffer稀释成1X的Enzyme Solution工作液。例如5μl Enzyme Solution (20X)中，加入95μl Urea Assay Buffer混匀即成Enzyme Solution工作液。配制好的Enzyme Solution工作液可在冰浴上暂时保存，1小时内酶活性基本稳定。
- 尿素反应工作液(Working Solution)的配制：按照每个反应150μl的体积配制适量的反应工作液。均匀混合50μl Detection Reagent A和100μl Detection Reagent B即可配制成150μl尿素反应工作液。根据待检测样品和标准品的数量，配制适量的尿素反应工作液。具体配制方法参考下表。配制好的尿素反应工作液如果置于4°C或冰浴避光保存，可以在当天数小时内使用，但建议尽量现配现用。

Samples	1	10	20	50
Detection Reagent A	50μl	0.5ml	1ml	2.5ml
Detection Reagent B	100μl	1ml	2ml	5ml
Working Solution	150μl	1.5ml	3ml	7.5ml

3. 样品测定。

- 尿素标准曲线设置。取20μl Urea Standard (20mM)，加入180μl Urea Assay Buffer，混匀，配制成浓度为2mM的尿素标准溶液。分别取2mM的尿素标准溶液0、1.56、3.13、6.25、12.5、25、50μl加入96孔板的标准品孔中，并用Urea Assay Buffer补足至50μl (或采用倍比稀释的方式配制标准溶液)，此时，标准曲线的浓度分别为0、0.0625、0.125、0.25、0.5、1、2mM。

注：吸光度检测时推荐使用透明96孔板(FCP962/FPT010/FPT011)。

- 取1-50μl样品或稀释后的样品至96孔板样品孔和样品背景对照孔中，并加入Urea Assay Buffer至样品孔中，补足至50μl。同时设置仅含Urea Assay Buffer的孔为空白对照孔。

注1：为确保样品数值在标准曲线范围内，建议进行预实验将样品设置多个稀释倍数，以确定样品中尿素的大致浓度，如果数值不在标准曲线范围内，请调整样品的稀释倍数或者样品的用量。样品总稀释倍数记为n (例如本步骤中对样品进行了10倍稀释，加入的‘稀释后的样品’为25μl，则n=10×50/25=20)。

注2：对于血清、组织裂解液上清等复杂样品，建议将适当样品设置多个稀释倍数进行预实验，在适当的稀释倍数时，样品的信号值和样品中的蛋白量通常会呈现出良好的线性关系。再根据预实验的结果，选取适宜的稀释倍数用于后续的测定，否则即使信号值在标准曲线的线性范围内，也可能无法得到理想的检测结果。

- 标准品孔和样品孔各孔加入10μl Enzyme Solution工作液，样品背景对照孔各孔加入10μl Urea Assay Buffer，混匀，37°C孵育30分钟。
 - 各孔(包括标准品孔、样品孔和样品背景对照孔)加入尿素反应工作液150μl，混匀，37°C避光反应30分钟。
- 注：如果吸光度偏低，可适当延长反应时间，例如反应45或60分钟。随着反应时间延长，高浓度标准品孔的信号值可能会达到平台期，从而导致其不在标准曲线的线性范围内，此时可以舍去异常点的数据，取在线性范围内的数据来拟合标准曲线。
- 在670nm处测定吸光度。
 - 建立标准曲线，并计算样品中尿素的浓度(A)，如果样品的背景对照信号比较高，样品的信号值应减去样品背景对照的信号值。尿素标准曲线可以参考图2，在0.02-2mM浓度范围内有良好的线性关系。尿素浓度的计算公式如下：

$$C(\text{mM})=A \times n$$

注1：A为步骤3f根据标准曲线确定的尿素浓度(mM)；

n为步骤3b样品总稀释倍数。

注2：如有必要，可根据尿素的分子量60.06计算出样品中尿素的质量浓度(mg/dl)=C×6.006。

Urea (mM)=BUN (mM)；Urea (mM)×2.8=BUN (mg/dl)，or Urea (mg/dl)/2.14=BUN (mg/dl)。

注3：虽然1分子尿素中含有2个氮原子，但定义上尿素和尿素氮的摩尔浓度是相同的，仅在计算质量浓度时需考虑2个氮原子。

参考文献：

- 余慧林, 房立君, 徐启芹. 中国中医药咨讯. 2011. 3(16):65-65.
- Wang H, Ran J, Jiang T. Subcell Biochem. 2014. 73:7-29.
- Keller RW, Bailey JL, Wang Y, Klein JD, Sands JM. Physiol Rep. 2016. 4(11):e12825.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0016/C0017	乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒	100次/500次
C0018	乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次

C0019	乳酸脱氢酶释放检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0110S	黄嘌呤氧化酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0111S	黄嘌呤氧化酶抑制剂筛选试剂盒(WST-8法)	100次
S0112	Amplex Red黄嘌呤氧化酶活性检测试剂盒	100次/500次
S0113S	Amplex Red黄嘌呤氧化酶抑制剂筛选试剂盒	100次
S0114S	黄嘌呤/次黄嘌呤检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0183S	果糖-6-磷酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0185	G6P检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0187S	磷酸葡萄糖异构酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0189	G6PDH活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0201	葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine法)	200次/1000次
S0202	葡萄糖检测试剂盒(GOD/POD显色法)	100次/500次
S0204S	D-乳酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0208S	L-乳酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0211	Amplex Red胆固醇与胆固醇酯检测试剂盒	100次/500次
S0215	Amplex Red游离脂肪酸检测试剂盒	100次/500次
S0219	Amplex Red甘油三酯检测试剂盒	100次/500次
S0223	Amplex Red甘油检测试剂盒	100次/500次
S0227S	Amplex Red L-乳酸检测试剂盒	100次
S0231S	Amplex Red尿酸与尿酸酶检测试剂盒	100次
S0235S	Amplex Red磷酸盐检测试剂盒	100次
S0239S	Amplex Red乙醇检测试剂盒	100次
S0240	乙醇检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0241	乙醇脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0243	Amplex Red黄嘌呤/次黄嘌呤检测试剂盒	100次/500次
S0247S	Amplex Red谷氨酸与谷氨酸氧化酶检测试剂盒	100次
S0251S	Amplex Red过氧化氢与过氧化物酶检测试剂盒	100次
S0255S	Amplex Red过氧化氢酶检测试剂盒	100次
S0259S	Amplex Red单胺氧化酶检测试剂盒	100次
S0263S	Amplex Red鞘磷脂酶检测试剂盒	100次
S0267S	Amplex Red胆碱与乙酰胆碱检测试剂盒	100次
S0271S	Amplex Red乙酰胆碱酯酶检测试剂盒	100次
S0275S	Amplex Red磷脂酰胆碱检测试剂盒	100次
S0279S	Amplex Red磷脂酶D检测试剂盒	100次
S0283S	Amplex Red肌酸检测试剂盒	100次
S0287S	Amplex Red肌酸激酶检测试剂盒	100次
S0291S	Amplex Red肌酐检测试剂盒	100次
S0295S	Amplex Red肌氨酸检测试剂盒	100次
S0299S	Amplex Red丙酮酸检测试剂盒	100次
S0303S	Amplex Red丙酮酸激酶检测试剂盒	100次
S0307S	Amplex Red ADP检测试剂盒	100次
S0311S	Amplex Red磷酸烯醇式丙酮酸检测试剂盒	100次
S0315S	Amplex Red丙氨酸检测试剂盒	100次
S0319S	Amplex Red丙氨酸转氨酶检测试剂盒	100次
S0323S	Amplex Red α -酮戊二酸检测试剂盒	100次
S0327S	Amplex Red天冬氨酸检测试剂盒	100次
S0331S	Amplex Red天冬氨酸氨基转移酶检测试剂盒	100次
S0335S	Amplex Red柠檬酸检测试剂盒	100次
S0339S	Amplex Red草酰乙酸检测试剂盒	100次
S0343S	Amplex Red葡萄糖检测试剂盒	100次
S0347S	Amplex Red葡萄糖氧化酶检测试剂盒	100次
S0351S	Amplex Red果糖检测试剂盒	100次

S0355S	Amplex Red乳糖检测试剂盒	100次
S0359S	Amplex Red半乳糖与乳糖检测试剂盒	100次
S0363S	Amplex Red半乳糖与半乳糖氧化酶检测试剂盒	100次
S0367S	Amplex Red麦芽糖检测试剂盒	100次
S0371S	Amplex Red麦芽糖与葡萄糖检测试剂盒	100次
S0375S	Amplex Red糖原检测试剂盒	100次
S0379S	Amplex Red磷酸果糖激酶检测试剂盒	100次
S0383S	Amplex Red乙酰辅酶A检测试剂盒	100次
S0387S	Amplex Red辅酶A检测试剂盒	100次
S0391S	Amplex Red乙酰辅酶A合成酶检测试剂盒	100次
S0511S	L-苹果酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0514S	苹果酸脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0517S	延胡索酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0520S	延胡索酸酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0523S	异柠檬酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0526S	异柠檬酸脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0529S	Amplex Red琥珀酸检测试剂盒	100次
S0530S	琥珀酸脱氢酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0532S	Amplex Red琥珀酰辅酶A合成酶检测试剂盒	100次
S0535S	支链氨基酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0538S	N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0540S	酪氨酸检测试剂盒(显色法)	100次
S0542S	酪氨酸酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0545S	酪氨酸酶抑制剂筛选试剂盒(显色法)	100次
S0547S	髓过氧化物酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0548S	Amplex Red髓过氧化物酶活性检测试剂盒	100次
S0550S	Amplex Red髓过氧化物酶抑制剂筛选试剂盒	100次
S0554	葡萄糖摄取检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0556	葡萄糖摄取检测试剂盒(DTNB法)	100次/500次
S0561	葡萄糖摄取荧光检测试剂盒(2-NBDG)	10-100次/50-500次
S0565S	乙醛检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0568S	乙醛脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0571	多酚含量检测试剂盒(显色法)	100次/500次
S0574	尿素检测试剂盒(显色法)	100次/500次
S0577S	尿素酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0580S	多巴胺检测试剂盒(荧光法)	100次
S0584S	总氨基酸检测试剂盒(显色法)	100次
P0321	碱性磷酸酶检测试剂盒	100次/500次
P0322	碱性磷酸酶检测试剂盒(荧光法)	100次/500次
P0326	酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0327S	酸性磷酸酶检测试剂盒(荧光法)	100次
P0329	胎盘碱性磷酸酶检测试剂盒	100次
P0332	抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0335	抗氟离子酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0392S	D-乳酸脱氢酶检测试剂盒(WST-8法)	100次
P0393S	L-乳酸脱氢酶检测试剂盒(WST-8法)	100次
P0395S	总乳酸脱氢酶检测试剂盒(WST-8法)	100次
P0405S	α -淀粉酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
P0407S	糖化酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
P0421S	细胞色素C氧化酶活性检测试剂盒(显色法)	100次