

尿酸(UA)含量检测试剂盒说明书

(货号: PB1015F48 分光法 48 样)

有效期: 3个月

注意: 正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

测定意义

UA 是鸟类和爬行类动物的主要代谢产物, 正常人体尿液中产物主要为尿素, 含少量尿酸。此外, UA 还是重要的抗氧化剂, 能清除超氧化物, 羟自由基等。体内UA 生成量和排泄量不平衡会导致多种疾病的发生。例如, 血中UA 升高会引起痛风、肾功能损害和动脉硬化, 相反UA 降低会引起恶性贫血, 在临床诊断上具有重要的意义。

测定原理

尿酸酶能催化UA 生成尿囊素, CO_2 及 H_2O_2 , H_2O_2 氧化亚铁氰化钾中的 Fe^{2+} 生成 Fe^{3+} , Fe^{3+} 进一步与酚和 4-氨基安替比林缩合生成红色醌类化合物, 在 505nm 下有特征吸收峰, 测定反应体系 505nm 的吸收值, 可计算尿酸的含量。

自备实验用品及仪器

恒温水浴锅、可见分光光度计、1 mL 石英比色皿和蒸馏水。

试剂的组成和配制

缓冲液: 液体 15mL×1 瓶, 4℃保存。

试剂一:

A. 用于标准管和测定管, 粉剂 1 瓶, -20℃避光保存, 使用前加 10mL 缓冲液溶解。

B. 用于空白管, 粉剂 1 瓶, -20℃避光保存, 使用前加 5mL 缓冲液溶解。

试剂二: 粉剂 1 瓶, 4℃避光保存, 使用前加 10mL 双蒸水置于 60℃加热溶解。

样品的制备:

1. 动植物组织: 建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 生理盐水或蒸馏水, 进行冰浴匀浆, 然后 8000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2. 液体: 澄清的液体可直接检测; 若浑浊则离心后取上清液检测。

3. 细胞样品

按照细胞数量 (10^4 个): PBS 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 细胞加入 1mL PBS), 冰浴超声波破碎 (功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定操作表

	标准管	空白管	测定管
试剂一 (μL)	A, 200	B, 200	A, 200
H ₂ O (μL)	600	800	600

试剂二 (μL)	200		
样品 (μL)			200
混匀，37℃水浴30min，于1mL 玻璃比色皿，空白管调零，测定505nm 处各管吸光值，标准管和空白管只需做一管。			

UA 含量计算公式

(1) 按样本重量计算

$$\begin{aligned} \text{尿酸含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div (W \div V \text{ 样总}) \\ &= 0.5 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W \end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{尿酸含量}(\mu\text{mol/mg prot}) &= C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div Cpr \\ &= 0.5 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div Cpr \end{aligned}$$

(3) 按液体计算

$$\begin{aligned} \text{尿酸}(\mu\text{mol/L}) &= C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times 10^3 \\ &= 500 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \end{aligned}$$

(4) 按细胞个数计算

$$\begin{aligned} \text{尿酸}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div (500 \div V \text{ 样总}) \\ &= 0.01 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \end{aligned}$$

C 标：标准品浓度 0.5 μmol/mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；W：样品质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；10³：1 μmol/L=10³ μmol/mL；500：细胞数量，万

注意事项

1. 血清样本请在24 小时内测定，或者4℃密封避光保存不超过72 小时。
2. 吸光值大于0.8 可用蒸馏水稀释样本，并在计算公式中算入稀释倍数。
3. 最低检出限为 10 μmol/L。