



尿酸(UA)含量检测试剂盒说明书

(货号: PB1015W96 微量法 96 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/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板和蒸馏水。

试剂组成和配制:

缓冲液: 液体 20mL×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 13mL 缓冲液溶解。

B: 用于空白管, 粉剂 1 瓶, -20℃ 避光保存, 使用前加 7 mL 缓冲液溶解。

试剂二: 粉剂 1 管, 4℃ 避光保存, 使用前加 2mL 蒸馏水溶解, 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

按细胞数量 (10⁴ 个): PBS 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 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:

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 505nm。

2、操作表

	标准管	空白管	测定管
试剂一 (μL)	A, 60	B, 60	A, 60

H ₂ O (μL)	180	240	180
试剂二 (μL)	60		
样品 (μL)			60
混匀，37℃水浴30min，取200μL 于微量石英比色皿/96 孔板中，测定505nm 处各管吸光值，标准管和空白管只需做一管。			

UV 含量计算公式：

(1) 按样本重量计算

尿酸含量(μmol/g 鲜重) = C 标准品 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管) ÷ (W ÷ V 样总)
= 0.5 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管) ÷ W

(2) 按样本蛋白浓度计算

尿酸含量(μmol/mg prot) = C 标准品 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管) ÷ Cpr = 0.5 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管) ÷ Cpr

(3) 按液体计算

尿酸(μmol/L) = C 标准品 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管) × 10³
= 500 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管)

(4) 按细胞个数计算

尿酸(μmol/10⁴ cell) = C 标准品 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管) ÷ (500 ÷ V 样总)
= 0.01 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管)

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/mL = 10³ μmol/L；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 10μmol/L。