

尿酸 (Uric Acid, UA) 含量试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

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，4℃ 避光保存，使用前加 13mL 缓冲液溶解。

试剂一 B：用于空白管，粉剂 1 瓶，4℃ 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.血清，培养液：直接检测。

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. 组织:
(1) 按样本重量计算

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

(2) 按样本蛋白浓度计算

尿酸含量 (μmol/mg prot) = $C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div C_{pr}$
 = $0.5 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div C_{pr}$

尿酸 (μmol/L) = $C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times 10^3$
 = $500 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})$

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; C_{pr}: 样本蛋白浓度, mg/mL; 10³: 1 μmol/L = 10³ μmol/mL

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。