Beijing Solarbio Science & Technology Co., Ltd
Tel: 400-968-6088
Fax: 010-56371281
Http://www.solarbio.com

尿酸（UA）含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC1365

规格：100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 100 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂六	粉剂×1 瓶	-20℃保存
标准品	液体 1mL×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

1、 试剂二：临用前加入 3 mL 试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂 2-8℃保存。2-8℃保存 1 周。（1 瓶粉剂溶解后可做 100T，为了延长使用时间，此产品多给 1 瓶粉剂）

2、 试剂三：临用前加入 6 mL 试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂 2-8℃可保存 4 周。

3、 试剂四：临用前加入 3 mL 试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂 2-8℃可保存 4 周。

4、 试剂五：粉剂置于试剂瓶内玻璃管中。临用前加入 6 mL 试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂-20℃分装保存，避免反复冻融。-20℃可保存 4 周。

5、 试剂六：粉剂置于试剂瓶内玻璃管中。临用前加入 6 mL 试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂-20℃保分装保存，避免反复冻融。-20℃可保存 4 周。

6、 标准品：5 μmol/mL 尿酸溶液。

7、 工作液 A 的配制：用于样本测定管、空白管及标准管的检测，按照试剂二：试剂三：试剂四：试剂五：试剂六=1:1:1:1:2 的比例配制，根据样本量现配现用，配后建议 2 小时内用完。

8、 工作液 B 的配制：用于样本对照管的检测，按照试剂二：试剂三：试剂四：试剂五：试剂一=1:1:1:1:2 的比例配制，根据样本量现配现用，配后建议 2 小时内用完。

产品说明：

尿酸为嘌呤代谢的终末产物，嘌呤代谢紊乱、能量代谢异常及肾脏对尿酸的排泄障碍等均可引起血浆尿酸水平升高或降低，进而导致多种疾病如通风、肾病、心血管疾病的发生，尿酸含量的测定在临床诊断中有着重要的指导意义。

尿酸酶催化尿酸分解为尿囊素、CO_2和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4-氨基安替比林和酚反应生成红色醌类化合物，在505nm处有特征吸收峰，通过测定505nm处的吸光值来计算尿酸的含量。

$$\text{Uric Acid} \xrightarrow{\text{Uricase}} \text{Allantoin}+H_2O_2 \xrightarrow{Fe^{2+}} Fe^{3+} \xrightarrow[\text{POD}]{\text{4-Aminoantipyine Phenol}} \text{Quinonemine (505nm)}$$

技术指标：

最低检出限：0.00388 μmol/mL

线性范围：0.003906-0.8 μmol/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、蒸馏水、冰、EP管。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）进行冰浴匀浆，然后 10000rpm，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

血清（浆）或尿液：直接检测。若溶液有浑浊则离心后取上清进行测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至505nm，分光光度计用蒸馏水调零。
2. 标准溶液的制备：将5μmol/mL标准液用蒸馏水稀释为0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625 μmol/mL的标准溶液备用，具体稀释可参考下表。

序号	稀释前浓度（μmol/mL）	标准液体积（μL）	蒸馏水体积（μL）	稀释后浓度（μmol/mL）
1	5	100	900	0.5
2	0.5	200	200	0.25
3	0.25	200	200	0.125
4	0.125	200	200	0.0625
5	0.0625	200	200	0.03125
6	0.03125	200	200	0.015625

备注：实验中每个标准管需 50μL 标准溶液。

3. 操作表：(在1.5 mL离心管/96孔板中)

试剂名称（μL）	对照管	测定管	标准管	空白管
样本	50	50	-	-
标准溶液	-	-	50	-
蒸馏水	-	-	-	50
工作液A	-	150	150	150
工作液B	150	-	-	-

旋涡混匀，37℃水浴或恒温培养箱中准确反应30min。于微量玻璃比色皿/96孔板，测定505nm处吸光值A，分别记为A对照管、A测定管、A标准管、A空白管。计算ΔA测定=A测定管-A对照管，ΔA标准=A标准管-A空白管。每个测定管需设一个对照管，标准曲线和空白管只需测1-2次。

三、UA 含量计算

1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度（x，μmol/mL）和吸光度ΔA标准（y，ΔA标准），建立标准曲线。根据标准曲线，将ΔA测定（y，ΔA测定）带入公式计算样本浓度（x，μmol/mL）。

2. UA含量的计算：

（1）按样本质量计算

UA含量（μg/g 质量）=x×V提取÷W×M=168x÷W

（2）按液体体积计算

UA含量（μg/mL 血清（浆）或尿液）=x×V样÷V样×M=168x

V提取：提取液体积，1mL；W：样本质量，g；M：尿酸分子质量，168；V样：加入的样本体积，0.05mL。

注意事项：

1、 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。注意同步修改计算公式。

2、工作液A与工作液B，需根据样本量现配现用，配后建议2小时内用完。工作液本身淡黄的，如有变色，则视为失效，需重新配制。

实验实例：

1、 取 0.1g 大鼠肾脏加入 1mL 提取液进行匀浆研磨，离心取上清后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算ΔA 测定=A 测定管-A 对照管=0.591-0.347=0.244，带入标曲 y=1.7648x+0.0127，计算 x=0.131，按样本质量计算含量得：

UA 含量（μg/g 质量）=168x÷W=168×0.131÷0.1=220.08 μg/g 质量。

2、 取鹅血清后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算ΔA 测定=A 测定管-A 对照管=0.217-0.093=0.124，带入标曲 y=1.7648x+0.0127，计算 x=0.063，按液体体积计算含量得：

UA 含量（μg/mL 血清）=168x =168×0.063=10.584 μg/mL 血清。

相关系列产品：

BC1300/BC1305　铜蓝蛋白（Cp）活性检测试剂盒

BC1310/BC1315　总抗氧化能力（T-AOC）检测试剂盒

BC1370/BC1375　总巯基含量检测试剂盒