

尿酸 (Uric Acid, UA) 含量测定试剂盒说明书

微量法100T/96S

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，CO₂及H₂O₂，H₂O₂ 氧化亚铁氰化钾中的Fe²⁺ 生成Fe³⁺，Fe³⁺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。

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°C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

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)

C标：标准品浓度0.5μmol/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；103：1μmol/L = 103μmol/mL

注意事项：

1. 血清样本请在24小时内测定，或者4°C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。