

尿酸含量（尿酸酶法）检测试剂盒说明书

（货号：ADS-W-KY010 微板法 96 样）

一、指标介绍：

尿酸是嘌呤代谢的最终产物，并通过肾脏过滤排泄到尿液中。许多肾脏疾病会影响尿酸水平，所以尿酸测定在诊断和评估肾脏疾病中具有重要作用。

本试剂盒利用尿酸酶特异作用于尿酸，氧化产生的产物与显色剂反应呈现的（粉）红色，该有色物质在 520nm 有最大吸收峰，进而计算得到尿酸含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 110mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 14mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 8mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂三	粉体 1 支	-20℃保存	1. 每支： 2. 临用前8000g 4℃离心2min使试剂落入管底； 3. 加1.1mL的试剂一溶解备用（保存周期与试剂盒有效期相同）。
标准管	粉体 1 支	4℃保存	4. 每支： 5. 临用前8000g 4℃离心2min使试剂落入管底； 6. 加2mL试剂一超声完全溶解，即0.2mg/mL尿酸溶液； 7. 再用蒸馏水稀释2倍（200μl标准品+200μl蒸馏水）即0.1mg/mL备用。（保存周期与试剂盒有效期相同）。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、天平、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

① 组织样本：

取约 0.1g 组织样本，加 1mL 的提取液研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，12000rpm，常温离心 10min，上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例进行提取。

② 液体样品：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

③ 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声

波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（ 10^4 ）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、检测步骤：

- ①打开酶标仪，设置温度 37℃（若仪器无法控温，则等待仪器过自检程序即可），设定波长到 520nm。
- ②做实验前选取 2 个样本，找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。
- ③所有试剂解冻至室温，在 96 孔板中依次加入：

试剂组分（μL）	测定管	空白管 （仅做一次）	标准管 （仅做一次）
样本	10		
蒸馏水		10	
标准品			10
试剂一	100	100	100
试剂二	80	80	80
混匀，37℃避光孵育 5min，于 520nm 处读取吸光值 A1。			
试剂三	10	10	10
混匀，37℃避光反应 10min，520nm 处读取吸光值 A2（直到 A2 值不变）， $\Delta A = A2 - A1$ 。			

【注】：1. 测定管的 A 值若超过 1，可把样本再进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若 ΔA 的差值在零附近徘徊，可增加样本加样量 V1（如增至 40μL，则试剂一相应减少，保持总体积不变），则改变后的 V1 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned}\text{尿酸含量}(\text{mg/g}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.1 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D\end{aligned}$$

2、按蛋白含量计算：

$$\begin{aligned}\text{尿酸含量}(\text{mg/mg prot}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (C_{\text{pr}} \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.1 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div C_{\text{pr}} \times D\end{aligned}$$

3、按液体体积计算：

$$\begin{aligned}\text{尿酸含量}(\text{mg/mL}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V1 \times D \\ &= 0.1 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{尿酸含量}(\mu\text{mol/L}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V1 \times D \times 10^6 \div Mr \\ &= 0.1 \times 10^6 \div Mr \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

4、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{尿酸含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.2 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

C 标准---尿酸标品浓度, 0.1mg/mL; D---稀释倍数, 未稀释即为 1;
V_标---加入样本体积, 0.01mL; V1---加入样本体积, 0.01mL;
V---提取液体积, 1mL; W---取样质量, g;
500---细胞数量, 万; Mr---尿酸分子量, 168.1。
Cpr---上清液蛋白浓度, mg/mL, 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。