

## 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， $\text{CO}_2$  及  $\text{H}_2\text{O}_2$ ， $\text{H}_2\text{O}_2$  氧化亚铁氰化钾中的  $\text{Fe}^{2+}$  生成  $\text{Fe}^{3+}$ ， $\text{Fe}^{3+}$  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。

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：**

- 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。
- 血清，培养液：直接检测。

**测定操作表：**

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm。
- 操作表

|                       | 标准管   | 空白管   | 测定管   |
|-----------------------|-------|-------|-------|
| 试剂一 (μL)              | A, 60 | B, 60 | A, 60 |
| H <sub>2</sub> 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( $\mu\text{mol/g}$  鲜重)=C 标准品 $\times$ (A 测定管-A 空白管) $\div$ (A 标准管-A 空白管) $\div$ (W $\div$ V 样总) $=0.5\times$ (A 测定管-A 空白管) $\div$ (A 标准管-A 空白管) $\div$ W

(2) 按样本蛋白浓度计算

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

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

C 标：标准品浓度  $0.5\mu\text{mol/mL}$ ；V 样总：加入提取液体积， $1\text{mL}$ ；W：样品质量，g；Cpr：样本蛋白浓度， $\text{mg/mL}$ ； $10^3$ ： $1\mu\text{mol/L}=10^3\mu\text{mol/mL}$

**注意事项：**

1. 血清样本请在 24 小时内测定，或者  $4^\circ\text{C}$  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  $10\mu\text{mol/L}$ 。