

## 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，CO<sub>2</sub> 及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化亚铁氰化钾中的 Fe<sup>2+</sup> 生成 Fe<sup>3+</sup>，Fe<sup>3+</sup> 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（ $\mu\text{L}$ ）	A, 60	B, 60	A, 60
H <sub>2</sub> O（ $\mu\text{L}$ ）	180	240	180
试剂二（ $\mu\text{L}$ ）	60		
样品（ $\mu\text{L}$ ）			60

混匀，37℃ 水浴 30min，取 200 $\mu\text{L}$  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， $\text{g}$ ；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  $10 \mu\text{mol/L}$ 。

