

## 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：D17063

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，有疑问请及时联系工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	粉剂×1 瓶	-20℃保存
标准品	液体 1mL×1 支	2-8℃保存
96 孔板（Cat#YA0501）	96 孔×1 块	-
封板膜（Cat#YA0249）	2 张	-

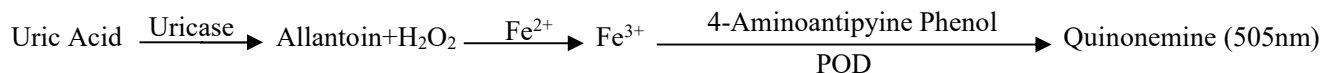
溶液的配制：

- 1、试剂四：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。
- 2、标准品：2.5 μmol/mL 尿酸溶液。
- 3、工作液 A 的配制：按照试剂二：试剂三：**试剂四**=250μL：750μL：500μL（10S）的比例配制，用于样本测定管、空白管及标准管的检测。根据样本量现配现用，配后建议 2 小时内用完（2-8℃或者冰上保存）。
- 4、工作液 B 的配制：按照试剂二：试剂三：**试剂一**=250μL：750μL：500μL（10S）的比例配制，用于样本对照管的检测。根据样本量现配现用，配后建议 2 小时内用完（2-8℃或者冰上保存）。

**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痛风、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<sub>2</sub>和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。



**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）

1. 组织样本：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。
2. 细菌/细胞样本：按细菌/细胞数量（ $10^6$ ）：提取液体积（mL）为 5~10：1 的比例加入提取液（建议 5 百万细菌/细胞加入 1.0mL 提取液），冰浴超声破碎细菌/细胞（功率 200w，超声 3s，间隔 7s，总时间 5min），然后于 4℃，10000rpm，离心 10min，取上清液置于冰上待测。
3. 血清（浆）或尿液样本：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2.5 $\mu\text{mol/mL}$ 标准液用蒸馏水稀释为0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625  $\mu\text{mol/mL}$  的标准溶液备用，具体稀释可参考下表。

序号	稀释前浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ）	标准液体积（ $\mu\text{L}$ ）	蒸馏水体积（ $\mu\text{L}$ ）	稀释后浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ）
1	2.5	100	400	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：下述实验中每个标准管需 50 $\mu\text{L}$  标准溶液（注意不要在此步骤直接检测标准溶液吸光度）。

#### 3. 操作表：（在1.5 mL离心管/96孔板中）

试剂名称（ $\mu\text{L}$ ）	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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。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， $\mu\text{mol/mL}$ ）和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ （y， $\Delta A_{\text{标准}}$ ），建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A$

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

$$\text{UA含量} (\mu\text{g/g 质量}) = x \times V_{\text{提取}} \div W \times M = 168x \div W$$

### (2) 按液体体积计算

$$\text{UA含量} (\mu\text{g/mL 血清(浆)或尿液}) = x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times M = 168x$$

### (3) 按细菌/细胞数量计算:

$$\text{UA含量} (\mu\text{g}/10^6 \text{ cell}) = x \times V_{\text{提取}} \div N \times M = 168x \div N$$

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; N: 细胞数量, 以10<sup>6</sup>计。

## 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 (2-8℃或者冰上保存)。工作液为淡黄色溶液, 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:

$$\text{UA含量} (\mu\text{g/g 质量}) = 168x \div W = 168 \times 0.131 \div 0.1 = 220.08 \mu\text{g/g 质量}。$$

- 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:

$$\text{UA含量} (\mu\text{g/mL 血清}) = 168x = 168 \times 0.063 = 10.584 \mu\text{g/mL 血清}。$$

## 相关发表文献:

[1] Su YN, Lu PP, Yan SY, Guo XT, Ma J, Guo CX, Ma LH. Xinfuli granule alleviates metabolic remodeling through inhibition of endoplasmic reticulum stress and mitochondrial injury in heart failure. *J Ethnopharmacol.* 2023 Mar 1;303:115782. doi: 10.1016/j.jep.2022.115782. Epub 2022 Oct 2. PMID: 36198376.

[2] Liu HB, Yang M, Li W, Luo T, Wu Y, Huang XY, Zhang YL, Liu T, Luo Y. Dispelling Dampness, Relieving Turbidity and Dredging Collaterals Decoction, Attenuates Potassium Oxonate-Induced Hyperuricemia in Rat Models. *Drug Des Devel Ther.* 2023 Aug 2;17:2287-2301. doi: 10.2147/DDDT.S419130. PMID: 37551408; PMCID: PMC10404409.

[3] Cui W, Zhou H, Zhang J, Zhang J, Wu D, Rong Y, Liu F, Liu J, Liu H, Wei B, Tang Y, Liao X, Xu X. Hepatoprotective effect of Artemisia Argyi essential oil on bisphenol A-induced hepatotoxicity via inhibition of ferroptosis in mice. *Environ Toxicol.* 2023 Oct;38(10):2416-2428. doi: 10.1002/tox.23877. Epub 2023 Jun 22. PMID: 37347548.

[4] Li H, Zhang C, Zhang H, Li H. Xanthine oxidoreductase promotes the progression of colitis-associated colorectal cancer by causing DNA damage and mediating macrophage M1 polarization. *Eur J Pharmacol.* 2021 Sep 5;906:174270. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174270. Epub 2021 Jun 24. PMID: 34171392.

[5] Zhu Q, Miao Y, Wang J, Bai W, Yang X, Yu S, Guo D, Sun D. Isolation, identification, and pathogenicity of a goose astrovirus causing fatal gout in goslings. *Vet Microbiol.* 2022 Nov;274:109570. doi: 10.1016/j.vetmic.2022.109570. Epub 2022 Sep 7. PMID: 36108347.

### 流程图：

