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_2 及 H_2O_2，H_2O_2 氧化亚铁氰化钾中的 Fe^{2+} 生成 Fe^{3+}，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：

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_2O（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（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）×10^3 =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；10^3 ： 1μmol/ L=10^3μmol/ mL

注意事项：

1. 血清样本请在 24 小时内测定，或者 4℃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。