

## 尿酸酶活性检测试剂盒（微量法）

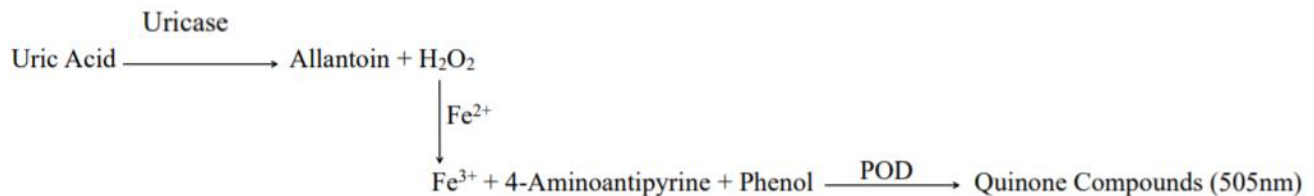
产品货号：BA1862

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

尿酸酶，又名尿酸氧化酶，是一种参与嘌呤降解途径的氧化酶，可以将尿酸分解为尿囊素进而排出体外。尿酸为嘌呤代谢的终末产物，积累过多将导致痛风、肾病、心血管疾病等多种疾病的发生。尿酸酶在尿酸相关疾病的临床检测以及治疗中有着重要意义。

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处的吸光值来反映尿酸酶的活性。



**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。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂五	粉剂×1瓶	-20℃
试剂六	液体6mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体102 μL×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂二：临用前取1瓶加入2mL试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂2-8℃保存1周。
2. 试剂三：临用前加入6mL试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂2-8℃保存4周。
3. 试剂四：临用前加入4mL试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂2-8℃保存4周。
4. 试剂五：粉剂置于瓶内玻璃管中。临用前加入6mL试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂-20℃分装保存4周，避免反复冻融。
5. 标准品：临用前加入898μL蒸馏水得到1mmol/mL的过氧化氢溶液，2-8℃保存4周。
6. 工作液A的配制：用于样本测定管、空白管及标准管的检测，按照试剂二:试剂三:试剂四:试剂五:试剂六=1:1:1:1:2的比例配制，根据样本量现配现用，配后建议2小时内用完。
7. 工作液B的配制：用于样本对照管的检测，按照试剂二:试剂三:试剂四:试剂五:试剂一=1:1:1:1:2的比例配



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

制，根据样本量现配现用，配后建议2小时内用完。

### 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、超声破碎仪、研钵/匀浆器、冰、EP管、蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可参考文献）

1. 组织：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. 细菌或细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ $10^4$ 个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万个细菌或细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细菌或细胞（功率200W，超声3s，间隔7s，总时间5min）；然后10000rpm，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。

#### 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，分光光度计蒸馏水调零。
2. 将1mmol/mL标准液用蒸馏水稀释为0.5 $\mu$ mol/mL的标准溶液备用。标准溶液的稀释：取20 $\mu$ L 1mmol/mL过氧化氢标准液，加入1980 $\mu$ L蒸馏水，充分混匀，配制成10 $\mu$ mol/mL标准液，再取50 $\mu$ L 1mmol/mL过氧化氢标准液，加入950 $\mu$ L蒸馏水，充分混匀，配制成0.5 $\mu$ mol/mL标准液使用，现用现配。（实验中每管需要30 $\mu$ L，为减小实验误差，故配制大体积）。
3. 操作表：（在1.5mL离心管/96孔板中）：

试剂名称（ $\mu$ L）	对照管	测定管	标准管	空白管
样本	30	30	-	-
标准溶液	-	-	30	-
蒸馏水	-	-	-	30
工作液 A	-	170	170	170
工作液 B	170	-	-	-

混匀，37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）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  $\Delta A$  测定=A 测定管-A 对照管， $\Delta A$  标准=A 标准管-A 空白管。每个测定管需设一个对照管，标准管和空白管只需测 1-2 次。

#### 三、尿酸酶活性计算

##### （1）按样本质量计算

酶活定义：在 pH8.8 的条件下，每克样本每小时分解尿酸产生 1 $\mu$ mol 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{尿酸酶酶活 (U/g 质量)} &= \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 样本} \div (W \times V \text{ 样本} \div V \text{ 提取}) \div T \\ &= \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W \end{aligned}$$

##### （2）按蛋白浓度计算

酶活定义：在 pH8.8 的条件下，每毫克蛋白每小时分解尿酸产生 1 $\mu$ mol 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{尿酸酶酶活 (U/mg prot)} &= \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 样本} \div (C_{pr} \times V \text{ 样本}) \div T \\ &= \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div C_{pr} \end{aligned}$$

##### （3）按照细菌或细胞数量计算

酶活定义：在 pH8.8 的条件下，每  $10^4$  个细菌或细胞每小时分解尿酸产生 1 $\mu$ mol 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 定义为一个酶活力单位。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

尿酸酶酶活 (U/10<sup>4</sup>cell) =  $\Delta A$  测定  $\div$  ( $\Delta A$  标准  $\div$  C 标准)  $\times$  V 样本  $\div$  (细菌数量(万个)  $\times$  V 样本  $\div$  V 提取)  $\div$  T =  $\Delta A$  测定  $\div$   $\Delta A$  标准  $\div$  细菌数量 (万个)

C 标准: 标准溶液浓度, 0.5 $\mu$ mol/mL; V 样本: 加入的样本体积, 0.03mL; V 提取: 提取液体积, 1mL; T: 酶促反应时间: 0.5h; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

#### 注意事项:

1. A 大于 1.5 时, 建议将样本用提取液稀释后再进行测定, 并在计算时乘以相应的稀释倍数。
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。工作液本身淡黄的, 随着时间的延长, 会由淡黄色变为橘红色、粉色、红色甚至酒红色, 如有变色, 则视为失效, 需重新配置。

#### 实验实例:

1. 取 0.1g 小鼠肝脏进行样本处理, 取上清稀释 4 倍后按测定步骤操作, 使用 96 孔板测定计算  $\Delta A$  测定=A 测定管-A 对照管=0.804-0.285=0.519,  $\Delta A$  标准=A 标准管-A 空白管=0.741-0.051=0.690, 按样本质量计算酶活得:

尿酸酶酶活 (U/g 质量) =  $\Delta A \div \Delta A$  标准  $\div$  W  $\times$  4 (稀释倍数) = 0.519  $\div$  0.690  $\div$  0.1  $\times$  4 = 30.09U/g 质量。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>