

## 尿酸酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

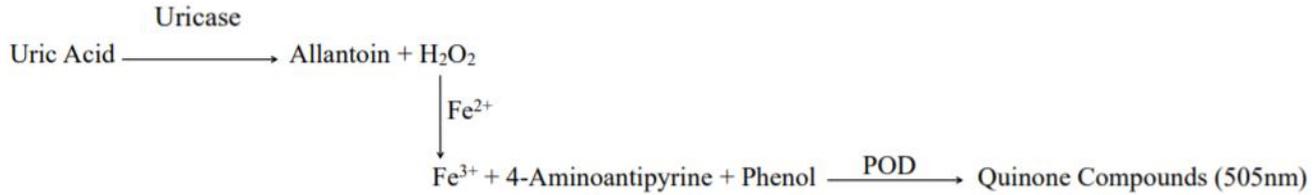
产品货号：BA1863

产品规格：50管/24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30mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体135mL×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12mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体102μL×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂二：临用前取1瓶加入6mL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12mL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36mL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50mL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、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、1mL玻璃比色皿、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）



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

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°C, 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<sup>4</sup>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°C, 离心 10min, 取上清置于冰上待测。

## 二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 505nm, 蒸馏水调零。
2. 将 1mmol/mL 标准液用蒸馏水稀释为 0.25μmol/mL 的标准溶液备用。标准溶液的稀释: 取 20μL 1mmol/mL 过氧化氢标准液, 加入 1980μL 蒸馏水, 充分混匀, 配制成 10μmol/mL 标准液, 再取 50μL 1mmol/mL 过氧化氢标准液, 加入 1950μL 蒸馏水, 充分混匀, 配制成 0.25μmol/mL 标准液使用, 现用现配。(实验中每管需要 150μL, 为减小实验误差, 故配制大体积)。
3. 操作表: (在 1.5mL 离心管中):

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	标准管	空白管
样本	150	150	-	-
标准溶液	-	-	150	-
蒸馏水	-	-	-	150
工作液 A	-	850	850	850
工作液 B	850	-	-	-

混匀, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其他物种) 恒温培养箱中准确反应 30min。于 1mL 玻璃比色皿, 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 1μmol 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{尿酸酶酶活 (U/g 质量)} &= \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{样本} \div (W \times V_{样本} \div V_{提取}) \div T \\ &= 0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \end{aligned}$$

### (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 1μmol 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{尿酸酶酶活 (U/mg prot)} &= \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{样本} \div (C_{pr} \times V_{样本}) \div T \\ &= 0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr} \end{aligned}$$

### (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<sup>4</sup> 个细菌或细胞每小时分解尿酸产生 1μmol 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 定义为一个酶活力单位。

$$\text{尿酸酶酶活 (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{样本} \div (\text{细菌数量(万个)} \times V_{样本} \div V_{提取}) \div T = 0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div \text{细菌数量 (万个)}$$

C 标准: 标准溶液浓度, 0.25μmol/mL; V 样本: 加入的样本体积, 0.15mL; V 提取: 提取液体积, 1mL; T: 酶促反应时间: 0.5h; C<sub>pr</sub>: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

### 注意事项:

1. A 大于 1 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。工作液本身为淡黄色, 随着时间的延长, 会由淡黄色变为粉色、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 8 倍后按测定步骤操作, 测定计算  $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管} = 0.652 - 0.218 = 0.434$ ,  $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管} = 0.614 - 0.017 = 0.597$ , 按样本质量计算酶活得:  $\text{尿酸酶酶活 (U/g 质量)} = 0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \times 8$  (稀释倍数) = 29.08U/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