尿酸含量（尿酸酶法）检测试剂盒说明书

（微板法 96 样）

一、产品简介：

尿酸是嘌呤代谢的最终产物，并通过肾脏过滤排泄到尿液中。许多肾脏疾病会影响尿酸水平，所以尿酸测定在诊断和评估肾脏疾病中具有重要作用。

本试剂盒利用尿酸酶特异作用于尿酸，氧化产生的产物与显色剂反应呈现的（粉）红色，该有色物质在520nm有最大吸收峰，进而计算得到尿酸含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 110mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 14mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉体 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 1.1mL 的试剂一溶解备用，可-20℃分装冻存，禁止反复冻融。
标准管	粉体 mg×1 支	4℃保存	临用前加1.74mL蒸馏水溶解（可超声），即6μmol/mL尿酸溶液，再用蒸馏水稀释3倍即2μmol/mL备用。

三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、水浴锅、蒸馏水。

四、尿酸含量检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 液体样品：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

② 组织样本：取约 0.1g 组织样本，加 1mL 的提取液研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，12000rpm，常温离心 10min，上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

③ 细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10^4）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min，设置温度在 37℃，设定波长到 520nm。

② 做实验前选取 2 个样本，找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。

③ 试剂解冻至室温（25℃），或可放在 25℃条件下水浴 5-15min。

④ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	空白管（仅做一次）	标准管（仅做一次）
样本	10		
蒸馏水		10	
标准品			10
试剂一	100	100	100
试剂二	80	80	80
混匀，37℃避光孵育 5min，于 520nm 处读取吸光值 A1。			
试剂三	10	10	10
混匀，37℃避光反应 10min，520nm 处读取吸光值 A2（直到 A2 值不变），ΔA =A2-A1。			

【注】：1.测定管的 A 值若超过 1，可把样本再进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

2.若△A 小于 0.01，可增加样本加样量 V1（如增至 40μL，则试剂一相应减少，保持总体积不变），或增加取样质量 W 和细胞数量，则改变后的 V1 或 W 或细胞数量需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、按液体体积计算：

尿酸含量(μmol/mL)=($C_{标准}$×$V_{标}$)×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)÷V1×D

=2×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)×D

尿酸含量(μmol/L)=($C_{标准}$×$V_{标}$)×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)÷V1×D×10^3

=2×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)×D×10^3

尿酸含量(μg/mL)=($C_{标准}$×$V_{标}$)×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)÷V1×Mr×D

=336.2×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)×D

2、按样本鲜重计算：

尿酸含量(μmol/g)=($C_{标准}$×$V_{标}$)×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)÷(W×V1÷V)×D

=2×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)÷W×D

尿酸含量(μg/g)=($C_{标准}$×$V_{标}$)×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)÷(W×V1÷V)×Mr×D

=336.2×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)÷W×D

3、按细胞数量计算：

尿酸含量(μmol/10^4 cell)=($C_{标准}$×$V_{标}$) ×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)÷(500×V1÷V)×D

=2×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)÷500×D

尿酸含量(μg/10^4 cell)=($C_{标准}$×$V_{标}$) ×Mr×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)÷(500×V1÷V)×D

=336.2×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($\Delta A_{标准}$-$\Delta A_{空白}$)÷500×D

C 标准---尿酸标品浓度 2μmol/mL；　D---稀释倍数，未稀释即为 1；　W---取样质量，g；

$V_{标}$---加入样本体积，0.01mL；　V1---加入样本体积，0.01mL；　500---细胞数量，万；

V---提取液体积，1mL；　Mr---尿酸分子量，168.1。