

# 尿酸酶活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: AC10702

规格:100T/48S

**产品内容：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C保存
试剂三	粉剂×1 瓶	4°C保存
试剂四	粉剂×1 瓶	4°C保存
试剂五	粉剂×1 瓶	-20°C保存
试剂六	液体 6 mL×1 瓶	4°C保存
标准品	液体 102 μL×1 支	4°C保存

溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前加入 2 mL 试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂 4°C 保存。4°C 保存 1 周。
- 2、试剂三：临用前加入 6 mL 试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂 4°C 保存。4°C 保存 2 周。
- 3、试剂四：临用前加入 4 mL 试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂 4°C 保存。4°C 保存 1 周。
- 4、试剂五：粉剂置于瓶内玻璃管中。临用前加入 6 mL 试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂-20°C 分装保存，避免反复冻融。 -20°C 保存 1 周。
- 5、标准品：临用前加入 898 μL 蒸馏水得到 1 mmol/mL 的过氧化氢溶液。
- 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。

## 产品说明：

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 505 nm 处有特征吸收峰，通过测定 505 nm 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。**

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式低温离心机、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、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，具体比例可以参考文献）

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。

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20%或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，蒸馏水调零。

2、将1mmol/mL标准液用蒸馏水稀释为0.5μmol/mL的标准溶液备用。

3、操作表：（在1.5mL离心管/96孔板中）

试剂名称（μL）	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ΔA=A测定管-A对照管，ΔA标准=A标准管-A空白管。每个测定管需设一个对照管，建议每次检测配1-2个标准管及空白管。

#### 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。

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

##### （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。

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

##### （3）按照细菌数量或细胞计算

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。

$$\begin{aligned} \text{尿酸酶酶活 (U/10}^4 \text{ germ)} &= \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 样本} \div (\text{细菌数量(万个)} \times V \text{ 样本} \div V \text{ 提取}) \div T \\ &= \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div \text{细菌数量 (万个)} \end{aligned}$$

C 标准: 标准溶液浓度, 0.5  $\mu\text{mol/mL}$ ; V 样本: 加入的样本体积, 0.03 mL; V 提取: 提取液体积, 1 mL; T: 酶促反应时间: 0.5 h; 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。
- 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  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.804 - 0.285 = 0.519$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.741 - 0.051 = 0.690$ , 按样本质量计算酶活得: 尿酸酶酶活 (U/g 质量)  $= \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times 4$  (稀释倍数)  $= 0.519 \div 0.690 \div 0.1 \times 4$  (稀释倍数)  $= 30.09$  U/g 质量。