

## 尿酸酶活性检测试剂盒（微量法）

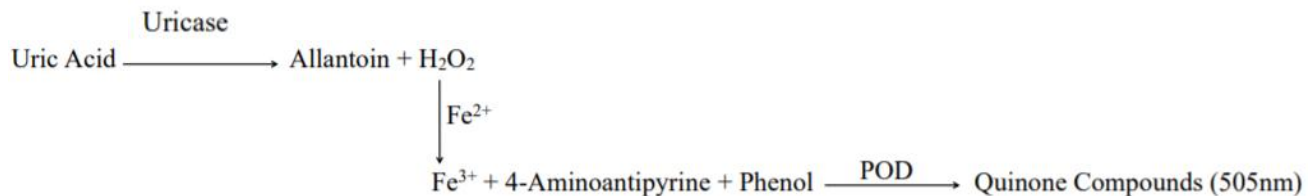
产品货号：BA1862

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的比例配制，根据样本量现配现用，配后建议2小时内用完。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

### 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<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℃，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0.5μmol/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0.5μmol/mL标准液，再取50μL 1mmol/mL过氧化氢标准液，加入950μL蒸馏水，充分混匀，配制成0.5μmol/mL标准液使用，现用现配。（实验中每管需要30μL，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（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测定=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，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。

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

##### （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。

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

##### （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<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。

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

C标准：标准溶液浓度，0.5μmol/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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

#### 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) =  $0.519 \div 0.690 \div 0.1 \times 4 = 30.09 \text{U/g 质量}$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com