

尿酸UA含量测定试剂盒 E2039

描述: 尿酸是嘌呤代谢的最终产物, 正常情况下, 成年人体内的尿酸大约有 1200 mg, 每天新生成约 600 mg, 同时排泄掉 600 mg, 处于平衡的状态。血尿酸主要通过肾排泄, 高尿酸血症可作为痛风的生化标志。增加尿酸合成的因素有饮食因素, 例如肉类、海产品、酒精及果糖的摄入增多, 另外肥胖、胰岛素抵抗、药物均是增加尿酸合成的因素。

原理: 尿酸在尿酸酶和过氧化物酶的作用下, 催化显色底物 4-氨基安替比林反应生成有色物质, 生成量与尿酸含量呈正比, 通过酶标仪比色法测定 550nm 处吸光度, 根据标准曲线求得尿酸含量。

本试剂盒优化了 GPO Trinder 酶学反应组分和操作步骤。简单易行、灵敏度高, 检测范围为 6-1000 μ mol/L。可用于精确测量动物组织细胞样本中的尿酸含量。

适用范围: 适用于动物实体组织、培养细胞、动物血清、细胞培养基上清等样本中尿酸的测定。

组成: 100 次

- (1) 裂解液 50 ml
 - (2) R1 试剂 16 ml
 - (3) R2 试剂 4 ml
 - (4) 4 mmol/L 尿酸标准品 1 ml
- 4 $^{\circ}$ C, 储存 6 个月。

所需设备: 酶标仪、生化分析仪或 721、722 型可见分光光度计。最佳工作波长 550nm, 如无此波长建议优先选用 570nm、次选 530、490nm。

操作步骤:

一 组织细胞裂解:

1. **细胞裂解上清的准备:** 收集待测细胞 ($\sim 5 \times 10^6$), 加入 0.5ml 裂解液并转移到匀浆管中进行冰浴匀浆, 然后 4 $^{\circ}$ C、10000g 离心 10 分钟, 取细胞裂解上清进行检测或 -80 $^{\circ}$ C 冻存。
2. **组织裂解上清的准备:** 取待测组织, 利用 PBS 冲洗红细胞和血凝块, 然后 20-50mg 将组织放置到匀浆管中, 加入 0.5ml 的裂解液进行冰浴匀浆, 4 $^{\circ}$ C、10000g 离心 10 分钟, 取组织裂解上清进行检测或 -80 $^{\circ}$ C 冻存。
2. **血清样品的准备:** 取新鲜血液, 25 $^{\circ}$ C 凝固 30 分钟, 4 $^{\circ}$ C、2000g 离心 15 分钟, 上清为血清, 取血清进行检测或 -80 $^{\circ}$ C 冻存。

正式测试时样品稀释倍数根据预实验确定。

二 工作溶液配制: 按 4:1 比例, 取 4 ml 试剂 R1 与 1 ml 试剂 R2 混合即可, 立即使用或 4 $^{\circ}$ C 保存 <1 天, 变色弃去。

三 标准品稀释: 用蒸馏水、生理盐水或与样品缓冲液一致的液体, 将 4 mM 尿酸标准品倍比稀释为 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.6、7.8 μ mol/L, 通常取其中 4-6 管即可, 注意设置 0 浓度对照反应管。

四 尿酸浓度测定:

1. 参见下表进行加样。如果样品测量值超出线性范围, 可进行适当稀释, 最后根据稀释倍数计算浓度。
2. 37 $^{\circ}$ C 水浴孵育 15 分钟。反应平衡后颜色在 60 分钟内稳定。
3. 先用蒸馏水+工作液的空白管调零, 然后于 550nm 测定各管 OD 值。
4. 绘制标准曲线并计算尿酸浓度。
附 Excel 作图步骤: 各标准管 OD 值为 y 轴, 标准品浓度为 x 轴。(1)鼠标左键圈住数据, 点击做图向导, 选择-散点图-, 点击-完成-。(2)鼠标右键点图上的某一点, 点击-添加趋势线-, 点击-选项-, 点击-显示公式-和-R²值-。
5. 以每 mg 蛋白浓度或细胞数校正尿酸含量。

加样比例 (检测范围 6-1000 μ mol/L)
(可对样品和工作液比例进行微量调整)

	96 孔微板测定		
	空白管	标准品	样品
蒸馏水 μ l	20		
标准品 μ l		20	
样品 μ l			20
工作液 μ l	180	180	180

说明:

1. 维生素 C > 0.18g/L、血红蛋白 > 2g/L、胆红素 > 0.25g/L、强还原剂二硫苏糖醇、巯基乙醇等会干扰测定。高浓度 EDTA 会干扰测定。
2. 建议样品 4 $^{\circ}$ C 保存时间应短于 24 小时, 当 -70 $^{\circ}$ C 保存时, 也应不超过 1 个月。
3. 为了您的健康, 请佩戴一次性手套进行操作。