

尿酸酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1927

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌

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。人类和高等灵长类在进化中失去了功能性的尿酸酶基因，导致尿酸成为嘌呤代谢的终产物，尿酸积累过多将导致痛风、肾病、心血管等多种疾病的发生。尿酸酶在尿酸相关疾病的治疗中有着重要意义，相关酶制剂在临床上用于治疗严重的高尿酸血症和痛风。本试剂盒提供了一种简单的检测方法检测生物样本中尿酸酶的活性水平。其原理是尿酸酶能催化尿酸（UA）生成尿囊素， CO_2 及 H_2O_2 ， H_2O_2 氧化亚铁氰化钾中的 Fe^{2+} 生成 Fe^{3+} ， Fe^{3+} 在过氧化物酶催化下进一步与酚和 4-氨基安替比林缩合生成红色醌类化合物，在 505nm 下有特征吸收峰，测定反应体系 505nm 的吸收值，可计算尿酸酶的活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	60mL	120mL	4℃ 保存
试剂一	1mL	2mL	-20℃ 避光保存
试剂二	5mL	10mL	4℃ 避光保存
H_2O_2 标准品 (8.8M)	0.1mL	0.1mL	4℃ 避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能检测 505nm）
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
恒温箱、低温离心机、制冰机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂一工作液：临用前配制；按 1:10 的比例加提取液稀释，如：1mL 试剂一加 9mL 提取液得 10mL 试剂一工作液。试剂一工作液建议 2 小时内用完，本身应为浅黄色，如变为红色，视为失效，需重新配制。未用完的工作液分装-20℃长期保存，避免反复冻融。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 避光保存。若有少量晶体析出，可 60℃ 加热溶解。

标准品：8.8M H_2O_2 标准液，使用前，平衡到室温；4℃ 避光保存。

标准曲线设置：

先配制 100mM H_2O_2 标准品：取 10 μL H_2O_2 标准品 (8.8M) 加 870 μL 去离子水稀释；

再配制 4mM H_2O_2 标准品：取 20 μL 100mM 的 H_2O_2 标准品用 480 μL 的去离子水稀释。

使用 4mM H_2O_2 标准品，按照下表所示，进一步稀释标准品。

	标准品体积	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (mM)
--	-------	--------------------------	------------

产品说明书

Std. 1	200μL of 4mM	0	4
Std. 2	100μL of Std. 1	100	2
Std. 3	100μL of Std. 2	100	1
Std. 4	100μL of Std. 3	100	0.5
Std. 5	100μL of Std. 4	100	0.25
Std. 6	100μL of Std. 5	100	0.125
Std. 7	100μL of Std. 6	100	0.0625

注意：每次实验，请使用新配制标准品； 配制好的标准品需要在 4h 之内使用。

样本制备

动植物组织：称取 0.1g 组织，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆，然后 10,000rpm，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。

细胞或细菌：收集 5×10^6 个细胞或细菌，用冷 PBS 清洗细胞或细菌后弃上清，加入 1mL 提取液冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次）。然后 10,000rpm，4℃离心 10min，取上清液待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 505nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白孔（μL）	标准孔（μL）	测定孔（μL）	对照孔（μL）
样本	0	0	30	30
标准品	0	30	0	0
去离子水	30	0	0	90
试剂二	90	90	90	0
试剂一工作液	160	160	160	160

混匀后 37℃孵育 20min 后，测定 505nm 处吸光度 A。计算 $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标}} - A_{\text{空}}$ ； $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}} - A_{\text{对}}$ （空白和标准曲线只需做 1 次）。

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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 0.8，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

1. 标准曲线绘制：

以 H_2O_2 标准品浓度（mM）为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测}}$ 代入公式计算出 y（1mM=1mmol/L=1μmol/mL），即 H_2O_2 含量。

2. 样本尿酸酶活性计算

（1）按样本鲜重计算

活性单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟生成 1μmol 的 H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

尿酸酶 (U/g 鲜重) = $y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times n = 0.467 \times y \div W \times n$

（2）按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟生成 1μmol 的 H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

尿酸酶 (U/ 10^4 cell) = $y \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 0.00093y \times n$

产品说明书

(3) 按样本蛋白浓度计算

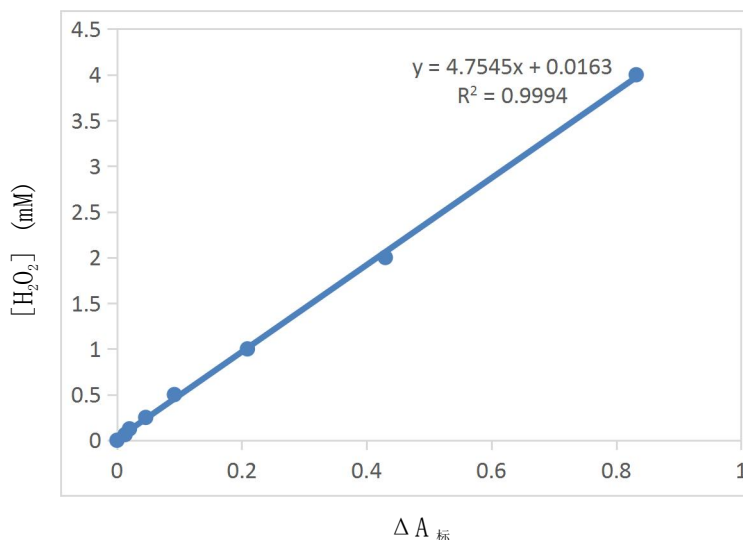
单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟生成 $1\mu\text{mol}$ 的 H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

尿酸酶 ($\text{U}/\text{mg prot}$) = $y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T \times n = 0.467 \times y \div \text{Cpr} \times n$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.28mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.03mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；W：样品质量，g；
T：反应时间，20min；n：样本稀释倍数；500：细菌或细胞数量，500万；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1036 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1038 过氧化物酶 (POD) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1041 黄嘌呤氧化酶 (XO) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1039 过氧化氢 (H_2O_2) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1037 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1056 尿酸 (UA) 检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解，请关注公众号：