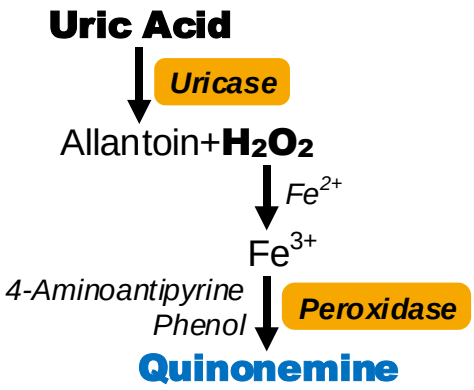
尿酸酶活性检测试剂盒

Uricase Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Catalog Number **AKAO015C**
Storage Temperature **-20°C**
Size **70T/25S**

Visible Spectrophotometry

尿酸酶活性检测试剂盒

Uricase Activity Assay Kit

一、产品描述

尿酸为嘌呤代谢的终末产物，嘌呤代谢紊乱、能量代谢异常及肾脏对尿酸的排泄障碍等均可引起血浆尿酸水平升高或降低，进而导致多种疾病如通风、肾病、心血管疾病的发生，尿酸酶又称尿酸氧化酶，是一种参与嘌呤降解途径的氧化酶，能够将尿酸分解为尿囊酸素进而排出体外，尿酸酶活性测定在尿酸相关疾病的临床诊断方面具有重要的指导意义。

尿酸酶能够催化尿酸分解为尿囊素、CO_2 和 H_2O_2，H_2O_2 氧化亚铁氰化钾中的 Fe^{2+} 生成 Fe^{3+}，Fe^{3+} 进一步与 4-氨基安替比林和酚反应生成红色醌类化合物，产物在 505 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征尿酸酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 30 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体 12 mL×1 瓶	-20℃避光保存	-
试剂三	液体 35 mL×1 瓶	4℃避光保存	-
试剂四	液体 15 mL×1 瓶	4℃避光保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4℃避光保存	**1 mmol/mL H_2O_2 标准液**
标准稀释液的制备（现用现配）：将 1 mmol/mL H_2O_2 标准液使用蒸馏水稀释至 0.5、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 μmol/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	B	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	1000	100	10	10	0.4	0.2	0.1	0.05
标准液体积（μL）	100	100	50	40	500	500	500	500
蒸馏水体积（μL）	900	900	950	960	500	500	500	500
稀释后浓度（μmol/mL）	100	10	0.5	0.4	0.2	0.1	0.05	0.025

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 5 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、尿液和培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 505 nm，蒸馏水调零。

②**工作液 A 的制备（现用现配）**：使用前根据使用量按试剂二：试剂三：试剂四=1:3:2（v/v）的体积比配制，置于冰上放置，配制后 2 h 内有效。

③**工作液 B 的制备（现用现配）**：使用前根据使用量按试剂一：试剂二：试剂三=2:1:3（v/v）的体积比配制，置于冰上放置，配制后 2 h 内有效。

④在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管（μL）	对照管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
粗酶液	150	150	-	-
标准稀释液	-	-	150	-
蒸馏水	-	-	-	150
工作液 A	850	-	850	850
工作液 B	-	850	-	-
37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）准确反应 30 min				

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 505 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算ΔA 测定=A 测定-A 对照，ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：每个样品均需一个对照管，空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.5、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 μmol/mL 为横坐标（x），以其对应的ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 y=kx+b，将ΔA 测定带入公式中得到 x（μmol/mL）。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.尿酸酶（Uricase）活性计算

①按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每小时生成 1 μmol H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Uricase（U/g）} = \frac{x \times V_{样总}}{W \times T} = \frac{2 \times x}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每小时生成 1 μmol H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Uricase（U/mg prot）} = \frac{x \times V_{样总}}{Cpr \times V_{样总} \times T} = \frac{2 \times x}{Cpr}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每小时生成 1 μmol H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Uricase（U/}10^4\text{ cell）} = \frac{x \times V_{样总}}{细菌或细胞数量 \times T} = \frac{2 \times x}{细菌或细胞数量}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时生成 1 μmol H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Uricase（U/mL）} = \frac{x \times V_{样}}{V_{样} \times T} = 2 \times x$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.15 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；W：样本质量，g；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计；T：酶促反应时间：0.5 h。

四、注意事项

①若 A 测定或ΔA 测定大于 1.2，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若ΔA 测定小于 0.02，建议适当增加样本量重新制备粗酶液或适当延长酶促反应时间后再进行测定，计算时相应修改；

②工作液 A 和 B 需根据使用量现用现配，配制后 2 h 内有效，若溶液由淡黄色变为其它颜色即变质，应立即停止使用重新配制；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.