(本试剂盒仅供体外研究使用,不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-F018

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 荧光酶标仪(激发波长 535 nm, 发射波长 587 nm)

Elabscience[®]尿酸(UA)荧光法测试盒 Uric Acid (UA) Fluorometric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题. 请通过以下方式联系我们:

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。 联系时请提供产品批号(见试剂盒标签),以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)、尿液等液体样本及动物组织样本中尿酸的含量。

检测原理

尿酸酶催化尿酸分解为尿囊素、CO₂和 H₂O₂,在过氧化物酶作用下,H₂O₂将无荧光探针氧化为有荧光的物质,通过测定体系的荧光值,即可计算出相应尿酸的含量。

本试剂盒检测组织样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格1	規格 2	保存方式
3m J	72 AV	(Size 1)(48 T)	(Size 2)(96 T)	(Storage)
试剂一	缓冲液	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	-20°C
(Reagent 1)	(Buffer Solution)	OU IIIL^1 71AL	00 IIIL^2 714	保存12个月
试剂二	探针	0.12 mL×1 支	0.24 mL×1 支	-20°C 避光
(Reagent 2)	(Probe Solution)	0.12 IIIL^1 史	0.24 IIIL^1 文	保存12个月
试剂三	酶试剂1	0.12 mL×1 支	0.24 mL×1 支	-20°C
(Reagent 3)	(Enzyme Reagent 1)	0.12 IIIL^1 文	0.24 IIIL^1 文	保存12个月
试剂四	酶试剂 2	0.6 mL×1 支	1.2 mL×1 支	-20°C
(Reagent 4)	(Enzyme Reagent 2)	0.0 IIIL^1 X	1.2 IIIL^1 X	保存12个月
试剂五 (Reagent 5)	20 μmol/L 尿酸标准品 (20 μmol/L Uric Acid Standard)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×1 支	-20°C 保存 12 个月
	96 孔黑色酶标板	96 孔×1 块		无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1	张	

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存,不同测试盒中的试剂不能混用。 对于体积较少的试剂,使用前请先离心,以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器: 荧光酶标仪(激发波长 535 nm, 发射波长 587 nm)

试剂准备

① 检测前,所有试剂平衡至室温。

② 反应工作液的配制:

按试剂一: 试剂二: 试剂三: 试剂四 = 36: 2: 2: 10的比例配制, 混匀, 实验前按需现配现用, 配制后避光保存。

③ 不同浓度标准品的稀释:

编号	1	2	3	4	⑤	6	7	8
标准品浓度(µmol/L)	0	2	4	6	8	10	12	15
20 μmol/L 标准品 (μL)	0	20	40	60	80	100	120	150
试剂一(μL)	200	180	160	140	120	100	80	50

样本准备

① 样本处理

组织样本: 匀浆介质为试剂一。匀浆后, 4℃, 10000×g 离心 10 min,取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前,需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验,根据预实验的结果,结合本试剂盒的线性范围: 0.03-15 μmol/L,请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	10-20	大鼠血清	10-20
人尿液	80-100	猪血清	不稀释
人胸水	50-60	10%大鼠肝组织	10-20
大鼠尿液	10-20	10%大鼠肾组织	30-40
兔血清	5-10	10%大鼠肺组织	10-20

注:稀释液为试剂一。

实验关键点

工作液配制完成后, 必须避光。

操作步骤

- ① 标准孔: 取 50 μL 不同浓度的标准品加入到对应的酶标板孔中。 测定孔: 取 50 μL 待测样本加入到对应的酶标板孔中。
- ② 向步骤①的标准孔和测定孔中加入 50 μL 工作液。
- ③ 酶标仪振板 5 s, 37℃ 解育 30 min。
- ④ 荧光酶标仪上设置激发光波长 535 nm, 发射光波长 587 nm, 测定各 孔荧光值。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品(μL)	50	
待测样本(μL)		50
工作液(μL)	50	50

酶标仪振板 5 s, 37℃孵育 30 min, 荧光酶标仪上设置激发 光波长 535 nm, 发射光波长 587 nm, 测定各孔荧光值。

本试剂盒检测组织样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用 BCA 法(货号: E-BC-K318-M)。

结果计算

标准品拟合曲线: y = ax + b

血清(浆)等液体样本中尿酸浓度的计算公式:

组织样本中尿酸浓度的计算公式:

$$UA$$
 浓度 $_{(\mu mol/gprot)} = (\Delta F - b) \div a \times f \div C_{pr}$

注解:

y:标准品的绝对荧光值(标准孔荧光值-空白荧光值,空白荧光值是标准品浓度为0时的荧光值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

△F: 样本测定荧光值-空白荧光值

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

Cpr: 待测样本的蛋白浓度(gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

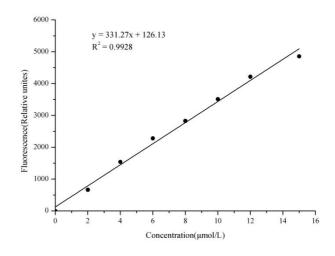
检测范围	0.03-15 μmol/L	平均批间差	7.2 %
灵敏度	0.03 μmol/L	平均批内差	1.5 %
平均回收率	101 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度标准品加样量50 µL,按照操作步骤进行实验, 荧光值如下表所示:

标准品浓度 (μmol/L)	0	2	4	6	8	10	12	15
荧光值	269	908	1758	2466	2974	3633	4263	4956
	263	949	1832	2626	3212	3921	4701	5285
平均荧光值	266	929	1805	2546	3093	3777	4482	5121
绝对荧光值	0	663	1539	2280	2827	3511	4216	4855

②绘制标曲(如下图):



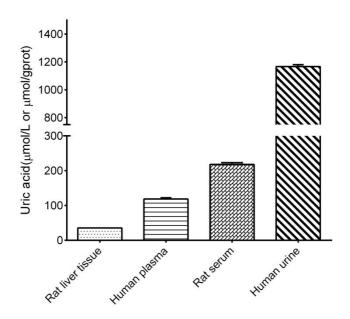
附录2 实例分析

例如检测人尿液(数据仅供参考):

人尿液用试剂一稀释100倍,取50 μ L稀释后的样本,按操作表检测,结果如下:标准曲线: y=227.73 x+141.88,测定孔平均荧光值为3077.9,空白荧光值为277.3,计算结果为:

尿酸浓度 =
$$(3077.9 - 277.3 - 141.88) \div 227.73 \times 100 = 1167.49 \ \mu mol/L$$

按照说明书操作,测定大鼠肝组织(10%组织匀浆蛋白含量6.94 gprot/L,稀释20倍,加样量50 μ L)、人血浆(稀释10倍,加样量50 μ L)、大鼠血清(稀释20倍,加样量50 μ L)、人尿液(稀释100倍,加样量50 μ L)中尿酸的含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
	标准品浓度稀释错误	按照标准品稀释表重新稀释 标准品
标准品不成线性	计算错误	按照计算公式进行计算
	使用过期的试剂	选择在保质期内的试剂
	样本稀释倍数不合适	选择合适稀释倍数,重新检测
样本测不出值	样本保存时间过长或者保 存不当	取新鲜样本, 重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长
决	试剂二未完全解冻	37℃使试剂二完全解冻

声明

- 1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将 不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
- 2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
- 3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
- 4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物 浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
- 5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测 有效性。
- 6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因 素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的 样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

- Zhang X, He C, Chen Y, et al. Cyclic reactions-mediated self-supply of H2O2 and O2 for cooperative chemodynamic/starvation cancer therapy[J]. Biomaterials, 2021, 275:120987-. IF:12.479
- Liu Q, Zhang T X, Zheng Y D, et al. Calixarene-Embedded Nanoparticles for Interference-Free Gene–Drug Combination Cancer Therapy[J]. Small, 2021, 2006223. IF:11.459
- 3. He C, Zhang X, Chen C, et al. A solid lipid coated calcium peroxide nanocarrier enables combined cancer chemo/chemodynamic therapy with O2/H2O2 self-sufficiency[J]. Acta Biomaterialia, 2021, 122. IF:8.203
- Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2021:2001133. IF:5.914
- 5. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in Micropterus salmoides[J]. Frontiers in Physiology, 2019, 10. IF:3.367
- Chang X, Zhang P, Xu X X, et al. Total Glucosides of Paeony Inhibited Autophagy and Improved Acute Kidney Injury Induced by Ischemia-Reperfusion via the lncRNA TUG1/miR-29a/PTEN Axis[J]. Dove Press, 2021. IF:3.349
- 7. Al-Kuraishy H M, Al-Gareeb A I, Al-Naimi M S. Renoprotective effect of irbesartan in a rat model of gentamicin-induced nephrotoxicity: Role of oxidative stress[J]. Journal of laboratory physicians, 2019, 11(3): 200.