（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-K896-M

产品规格：48T(23 samples)/96T(47 samples)

检测仪器：酶标仪(293 nm)

Elabscience®尿酸酶比色法测试盒

Uricase Acitivity Colorimetric 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动(植)物组织样本中的尿酸酶的活力。

检测原理

尿酸酶(Uricase)是嘌呤分解途径的一种酶,能专一催化尿酸氧化分解成溶解度更高的尿囊素，从而降低血尿酸水平。

本试剂盒的原理是:尿酸酶可氧化底物,底物在293 nm处有最大吸收峰。通过测定 293 nm 处的 OD 值降低程度，计算样本中尿酸酶的活力。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	35 mL ×1 瓶	35 mL ×2 瓶	-20ºC 避光保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂 ×4 支	粉剂 ×8 支	-20ºC 避光保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	基质液 (Matrix Solution)	6 mL ×1 瓶	12 mL ×1 瓶	-20ºC 避光保存 6 个月
	UV 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：酶标仪(最佳检测波长 293 nm)，恒温箱，超声清洗仪

试剂准备

① 检测前，试剂盒中试剂平衡至室温(25 ℃)。

② 试剂二工作液的配制：

取一支试剂二，加入1 mL试剂三，超声至全部溶解。未使用完的试剂二工作液可-20 ℃保存3天。

③ 工作液的配制：

将试剂二工作液：试剂一按体积比= 1：29配制，混匀，按需配制，现配现用，8 h内使用有效。

④ 反应工作液：

将工作液：试剂一按体积比= 1：4配制，混匀，按需配制，现配现用，8 h内使用有效。

样本准备

① 样本处理

组织样本：按照组织样本质量(g)：试剂一体积(mL)=1：9的比例匀浆，4ºC，10000 ×g离心10 min，取上清液置于冰上待测，4 h内有效。

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：0.06-4.00 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肝组织	1-3	10%猪肝组织	1-3
10%菠菜组织	不稀释		

注：稀释液为试剂一。

操作步骤

① 空白孔：取 20 μL 试剂一加入相应的酶标孔中。

测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。

对照孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。

② 向步骤①中测定孔、空白孔加入 160 μL 反应工作液。

向步骤①中的对照孔加入 160 μL 试剂一。

③ 振板 5 s，酶标仪于 293 nm 检测各孔的 OD 值 A_1。

④ 37 ℃，避光孵育 20 min。

⑤ 振板 5 s，酶标仪于 293 nm 检测各孔的 OD 值 A_2。

操作表

	空白孔	测定孔	对照孔
试剂一(μL)	20	--	--
待测样本(μL)	--	20	20
反应工作液(μL)	160	160	--
试剂一(μL)	--	--	160
振板 5 s，酶标仪于 293 nm 检测各孔的 OD 值 A_1。			
37 ℃，避光孵育 20 min。			
振板 5 s，酶标仪于 293 nm 检测各孔的 OD 值 A_2。			

结果计算

组织样本中尿酸酶酶活计算公式：

定义：37℃条件下，每千克组织在每升反应体系中每分钟消耗 1 μmol 尿酸定义为一个酶活力单位。

尿酸酶活力
(U/Kg wet weight)

$$= (\Delta A_{测} - \Delta A_{对} - \Delta A_{空}) \times V_{总} \times f \div \varepsilon \div d \div V_{样} \div T \div \frac{m}{v} \times 10^6*$$

注解：

$\Delta A_{测}$：测定孔 $A_1 - A_2$

$\Delta A_{对}$：对照孔 $A_1 - A_2$

$\Delta A_{空}$：空白孔 $A_1 - A_2$

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

$V_{总}$：反应体系总体积，0.18 mL

$V_{样}$：加入样本体积，0.02 mL

T：反应时间，20 min

ε：摩尔吸光系数，12500 L $mol^{-1}cm^{-1}$

d：光径，0.6 cm

m：样本质量，g

v：匀浆体积，mL

10^6*：1 mol/L = 10^6 μmol/L

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.06-4.00 U/L	**批间差**	6.7-8.8%
灵敏度	0.06 U/L	**批内差**	2.6-3.4%
稀释回收率	99-100%		

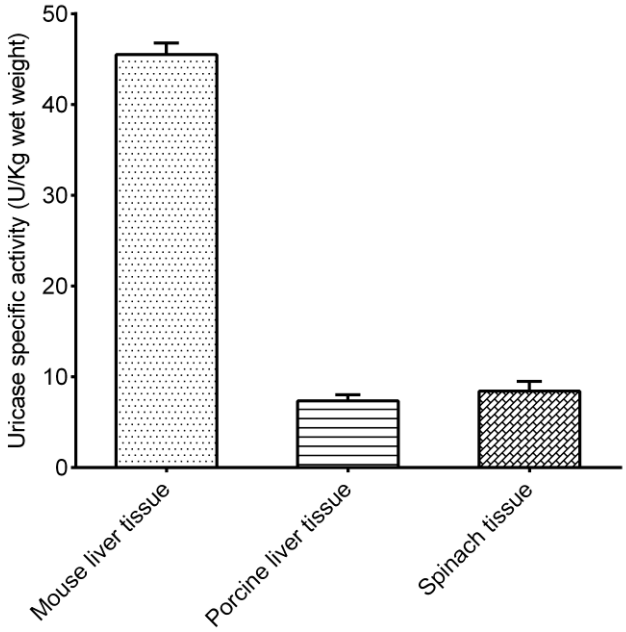
附录2 实例分析

例如检测10%小鼠肝组织样本(数据仅供参考)：

取20 μl稀释2倍的10%小鼠肝组织匀浆上清加入到酶标板孔中，按操作表操作，结果如下：空白孔平均A_1值为0.790，测定孔平均A_1值为1.465，对照孔平均A_1值为0.742；空白孔平均A_2值为0.787，测定孔平均A_2值为1.395，对照孔平均A_2值为0.716。$\Delta A_{测} = 1.465 - 1.395 = 0.070$，$\Delta A_{对} = 0.742 - 0.716 = 0.026$，$\Delta A_{空} = 0.790 - 0.787 = 0.003$，计算结果为：

尿酸酶活力(U/Kg wet weight) = (0.07 - 0.026 - 0.003) × 0.18 × 2 ÷ 12500 ÷ 0.6 ÷ 0.02 ÷ 20 ÷ 0.1 × 0.9 × 1 × 10^6 = 44.28 U/Kg wet weight

按说明书操作，10%小鼠肝组织(稀释2倍，加样量20 μL)、10%猪肝组织(加样量20 μL)、10%菠菜组织(加样量20 μL)中的尿酸酶活力(如下图)：



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。