

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ017

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 GBQ162）进行测定。

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)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	-20℃ 保存 12 个月
试剂二 (Reagent 2)	探针 (Probe Solution)	0.12 mL×1 支	0.24 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 12 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 1 (Enzyme Reagent 1)	0.12 mL×1 支	0.24 mL×1 支	-20℃ 保存 12 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶试剂 2 (Enzyme Reagent 2)	0.6 mL×1 支	1.2 mL×1 支	-20℃ 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℃ 保存 12 个月
	96 孔黑色酶标板	1 板		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 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 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 $^{\circ}\text{C}$ 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：GBQ162)。

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:

$$\text{UA 浓度} = (\Delta F - b) \div a \times f$$

($\mu\text{mol/L}$)

组织样本中尿酸浓度的计算公式:

$$\text{UA 浓度} = (\Delta F - b) \div a \times f \div C_{\text{pr}}$$

($\mu\text{mol/gprot}$)

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

ΔF : 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

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度(gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

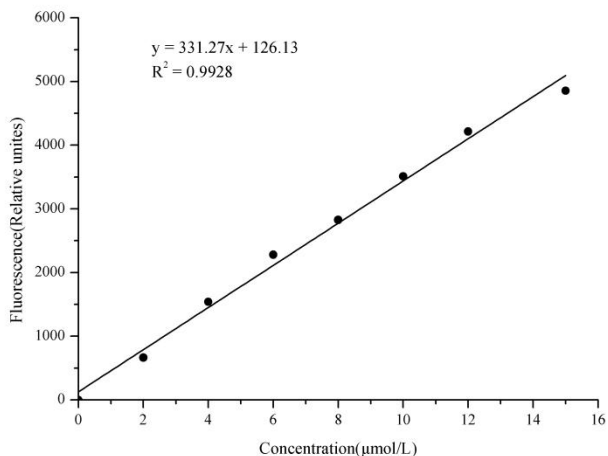
检测范围	0.03-15 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	7.2 %
灵敏度	0.03 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	1.5 %
平均回收率	101 %		

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 ($\mu\text{mol/L}$)	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):



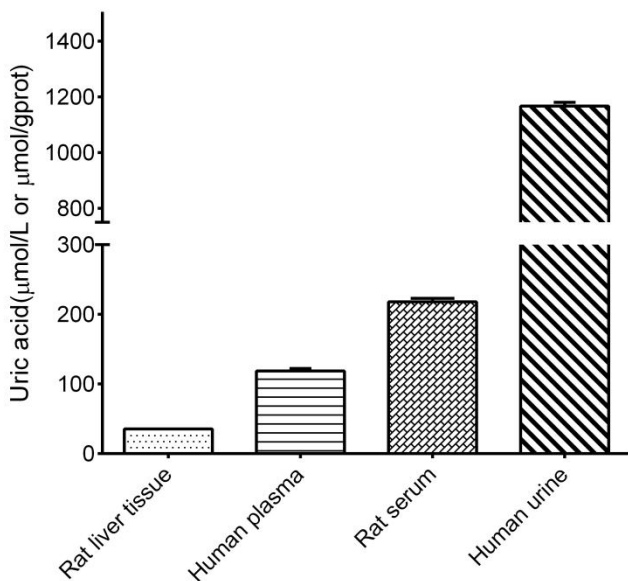
附录2 实例分析

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 μL 稀释后的样本, 按操作表检测, 结果如下: 标准曲线: $y = 227.73x + 141.88$, 测定孔平均荧光值为3077.9, 空白荧光值为277.3, 计算结果为:

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

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 μL)、人血浆(稀释10倍, 加样量50 μL)、大鼠血清(稀释20倍, 加样量50 μL)、人尿液(稀释100倍, 加样量50 μL)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
标准品不成线性	标准品浓度稀释错误	按照标准品稀释表重新稀释标准品
	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
样本测不出值	样本稀释倍数不合适	选择合适稀释倍数, 重新检测
	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
	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

1. 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
2. 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
4. 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
6. 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.

