

# 黄嘌呤氧化酶(XOD)试剂盒(微板法)

产品货号: BA2677

产品规格:96样

## 产品简介:

黄嘌呤氧化酶(XOD, EC 1.17.3.2)属需氧脱氢酶类,是活性氧主要来源之一,也是核苷酸代谢的关键酶之一。 XOD主要分布于哺乳动物的肝脏等组织中,当肝功能受损时,XOD大量释放到血清中,对肝损害的诊断具有特 异性的意义。

黄嘌呤氧化酶(XOD)催化黄嘌呤氧化生成尿酸和超氧阴离子自由基,接着与显色剂反应生成有色物质,通过 检测有色物质的生成量多少即可计算得出XOD酶活性大小。

# 产品内容:

114.H •			
产品名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体120mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	粉剂mg×1支	-20°C	用前甩几下使试剂落入底部,再加1.1mL蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体10mL×1瓶	2-8°C	
试剂三	粉剂mg×3支	2-8°C	临用前甩几下,使粉剂落入底部,每支加0.1mL试 剂四振荡或超声溶解后,再加3.9mL蒸馏水混匀使 用(务必加0.1mL试剂四溶解后再加水),一周内 用完。
试剂四	液体0.7mL×1支	2-8°C	

#### 所需的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、低温离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

### 黄嘌呤氧化酶(XOD)的测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

- 1. 样本制备:
- ① 组织样本:

取约0.1g组织,加入1mL提取液,在4℃或冰浴进行匀浆(或使用各类常见匀浆器)。4°C×12000rpm离心10min, 取上清作为待测液。

【注】: 若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约500万细菌或细胞加入1mL提取液,超声波破碎细菌或 细胞(冰浴,功率200W,超声3s,间隔10s,重复30次);12000rpm 4°C离心10min,取上清,置冰上待测。

【注】: 若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10<sup>4</sup>):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

- ③ 液体样本:直接检测;若浑浊,离心后取上清检测。
- 2. 上机检测
- ① 酶标仪预热30min以上,调节波长至450nm。
- ② 测定前将试剂一、二和三25℃水浴5min以上。
- ③ 用排枪操作,以减小各孔间因加入试剂时间先后导致的误差。
- ④ 试剂三每次加样前务必混匀,保证试剂的均一性。
- ⑤ 在96孔板中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管
样本	20



上海尚宝生物科技有限公司 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号 电话: 400-611-0007 13671551480 Q Q: 807961520

邮箱: sainthio@126 com http://www.saint-bio.com



试剂一	10
试剂二	90
试剂三	80

混匀, 立即于450nm读取吸光值A1, 37℃避光 孵育30min后读取A2, ΔA=A2-A1。

【注】: 若 $\Delta A$ 小于0.01,可延长反应时间T(如增至60min)或加大样本量V1(如增加至40 $\mu$ L,则试剂二相应减少),或增加取样质量W;则改变后的T和V1和W需代入计算公式重新计算。

# 结果计算:

1. 按样本鲜重计算:

酶活定义: 37℃下每克组织样本每分钟催化产生1nmol有色物质为一个酶活单位(U)。 XOD 活性(U/g 鲜重)=( $\Delta A$ ÷ε÷d×V2×10 $^9$ )÷(W×V1÷V)÷T=21.5× $\Delta A$ ÷W

2. 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 37℃下每毫克蛋白样本每分钟催化产生1nmol有色物质为一个酶活单位(U)。

XOD 活性(U/mg prot)=( $\Delta A \div \epsilon \div d \times V2 \times 10^9$ )÷(V1×Cpr)=21.5× $\Delta A \div Cpr$ 

3. 按细胞数量计算:

酶活定义:每106个细胞每分钟催化产生1nmol有色物质为一个酶活单位(U)。

XOD 活性(U/10<sup>6</sup>cell)=( $\Delta A \div \varepsilon \div d \times V2 \times 10^9$ )÷( $5 \times V1 \div V$ )= $21.5 \times \Delta A \div 5$ 

4. 按液体体积计算:

酶活定义: 37℃下每毫升样本每分钟催化产生1nmol有色物质为一个酶活单位(U)。

XOD 活性(U/mL)=( $\Delta$ A÷ε÷d×V2×10<sup>9</sup>)÷V1=21.5× $\Delta$ A

V---提取液体积,1mL; V1---加入反应体系中样本体积,0.02ml; d---光径,0.5cm; V2---反应体系总体积, $200\mu L$ = $2\times10^4L$ ; T---反应时间,30min;  $\epsilon$ ---甲臜物质的摩尔消光系数, $3.1\times10^4L/mol/cm$ ; W---样本质量,g; 5---细胞数量,百万;Cpr---样本蛋白质浓度,mg/mL; 建议使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒。

