

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0344

Size: 100T/96S

黄嘌呤氧化酶 (XOD) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

XOD (EC 1.17.3.2) 催化黄嘌呤氧化生成尿酸和超氧阴离子, 是活性氧主要来源之一; 同时也是核苷酸代谢的关键酶之一。XOD 主要分布于哺乳动物的心, 肺, 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。

二、测定原理:

XOD 催化黄嘌呤产生尿酸, 尿酸在 290nm 下有特征吸收峰。

三、需自备的仪器和用品:

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板 (ZC-1036: UV 板)、研钵、冰和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	100mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂一	30mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂二	粉剂 × 2 瓶	4°C 保存	

五、粗酶液提取:

1、细菌、细胞或组织样品的制备:

细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 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 1mL 提取液), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 4°C

离心10min，取上清，置冰上待测。

组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

2、血清（浆）样品：直接检测。

六、操作步骤：

1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至290nm，蒸馏水调零。

2、XOD 检测工作液的配制：用时在每瓶试剂二中加入15mL试剂一，充分混匀，待用；用不完的试剂 4℃可保存一周；

3、测定前将XOD检测工作液在37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴10min以上。

4、在微量石英比色皿或 96 孔板中加入 10 μL 样本和 250 μL 工作液，立即混匀并计时，记录 290nm 下初始吸光值 A1 和 1min 后的吸光值 A2。计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

七、XOD 活性计算：

● 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、血清（浆）XOD 计算：

单位的定义：每毫升血清（浆）每分钟催化产生1nmol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 2131 \times \Delta A$$

2、组织、细菌或细胞中 XOD 计算：

（1）按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白每分钟催化产生1nmol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{XOD (nmol/min/mg prot)} &= [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 2131 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

（2）按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织每分钟催化产生1nmol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{XOD (nmol/min/g 鲜重)} &= [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 2131 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

（3）按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每一万个细菌或细胞每分钟催化产生1nmol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (nmol/min/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 4.26 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积， 2.6×10^{-4} L； ϵ ：尿酸摩尔消光系数， 1.22×10^4 L/mol/cm；
d：比色皿光径，1cm；V样：加入样本体积，0.01 mL；V样总：加入提取液体积，1mL；T：
反应时间，1min；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细胞或细菌总数，
500 万。

● 用96孔板（UV 板）测定的计算公式如下

1、血清（浆）XOD 计算：

单位的定义：每毫升血清（浆）每分钟催化产生1nmol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 4262 \times \Delta A$$

2、组织、细菌或细胞中 XOD 计算：

（1）按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白每分钟催化产生1nmol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ = 4262 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

（2）按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织每分钟催化产生1nmol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 4262 \times \Delta A \div W$$

（3）按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每一万个细菌或细胞每分钟催化产生1nmol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (nmol/min/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 8.52 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积， 2.6×10^{-4} L； ϵ ：尿酸摩尔消光系数， 1.22×10^4 L/mol/cm；
d：96孔板（UV 板）光径，0.5cm；V样：加入样本体积，0.01 mL；V样总：加入提取液体
积，1 mL；T：反应时间，1 min；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：
细胞或细菌总数，500 万。