

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-S0617

Size: 50T/48S

黄嘌呤氧化酶 (XOD) 检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

*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、台式离心机、可调式移液器、1mL 石英比色皿、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	60mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂一	60mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂二	粉剂 × 4 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℃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 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 10min。

(4) 取 1mL XOD 检测工作液于 1mL 石英比色皿中，再加入 35 μ L 样本，混匀，室温下立即测定 290nm 下的初始吸光值 A1 和 1min 后的吸光值 A2，计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

七、XOD 活性计算：

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。

$$\text{XOD (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 2424 \times \Delta A$$

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。

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

$$= 2424 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(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。

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

$$= 2424 \times \Delta A \div W$$

(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。

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

$$= 4.848 \times \Delta A$$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, $1.035 \times 10^{-3} \text{L}$; ϵ : 尿酸摩尔消光系数, $1.22 \times 10^4 \text{L}/\text{mol}/\text{cm}$;
 d : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.05 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; T :
反应时间, 1 min; W : 样本质量, g; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; 500: 细胞或细菌总数,
500 万。