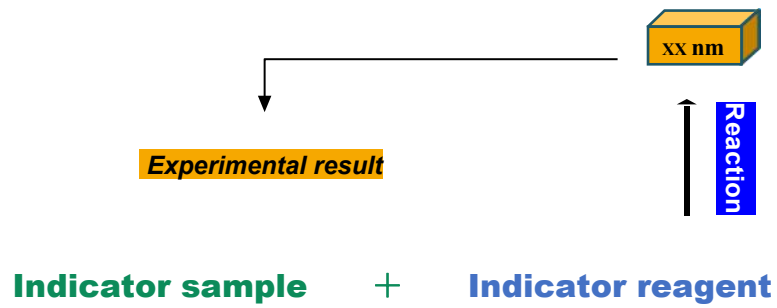


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

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

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。

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。

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（UV板）、研钵、冰和蒸馏水。

试剂组成和配制：

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℃保存	-
试剂一	30mL×1瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×2瓶	4℃保存	-

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。

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 $\Delta A = A2 - A1$ 。

XOD 活性计算:

a. 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。

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

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。

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

(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。

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

(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。

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

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。

b. 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。

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

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。

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

(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。

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

(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。

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

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。