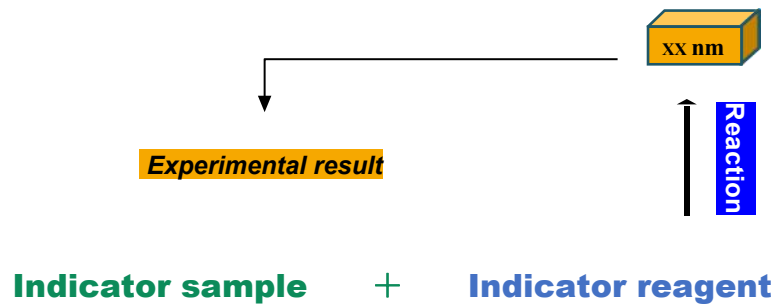


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 黄嘌呤氧化酶（XOD）检测试剂盒说明书

### 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

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、台式离心机、可调式移液器、1mL石英比色皿、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	60mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	60mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×4 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  $\mu$ 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  $\Delta A = A2 - A1$ 。

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。

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

## 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。

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

$$= 2424 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

### (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。

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

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

### (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。

$$\text{XOD (nmol/min/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 4.848 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积， $1.035 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：尿酸摩尔消光系数， $1.22 \times 10^4$  L/ mol /cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.05 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。