

黄嘌呤氧化酶（XOD）活性检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1159

产品规格：100管/96样

产品简介：

XOD（EC 1.1.7.3.2）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。

XOD催化黄嘌呤产生尿酸，尿酸在290nm下有特征吸收峰。

产品内容：

提取液：液体100mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体30mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×2瓶，4℃保存。

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UV板、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

1、细菌、细胞或组织样品的制备

收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

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。或者直接用0.5mg/mL的酶液直接测定，为保证实验准确性建议用提取液梯度稀释后测定。

2、血清（浆）样品：直接检测。

二、测定步骤：

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、测定前按需取出一定量的XOD检测工作液在37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴30min以上。

4、空白管：在EP管中加入10μL水和250μL工作液，立即混匀并取200μL转移至微量石英比色皿或96孔板中，记录290nm下初始吸光值A1和1min后的吸光值A2。计算 $\Delta A_{\text{空白}} = A_2 - A_1$ 。

5、测定管：在EP管中加入10μL样本和250μL工作液，立即混匀并取200μL转移至微量石英比色皿或96孔板中，记录290nm下初始吸光值A1和1min后的吸光值A2。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_2 - A_1$ 。

三、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1μmol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/mL)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{\text{样}} \div T = 2.131 \times \Delta A$$



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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1 μ mol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/mg prot)} = [(\Delta\text{A测定}-\Delta\text{A空白}) \times \text{V反总} \div (\epsilon \times \text{d}) \times 10^6] \div (\text{Cpr} \times \text{V样}) \div \text{T} = 2.131 \times \Delta\text{A} \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织每分钟催化产生1 μ mol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/g 鲜重)} = [(\Delta\text{A测定}-\Delta\text{A空白}) \times \text{V反总} \div (\epsilon \times \text{d}) \times 10^6] \div (\text{V样} \div \text{V样总} \times \text{W}) \div \text{T} = 2.131 \times \Delta\text{A} \div \text{W}$$

(3) 按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每万个细胞每分钟催化产生1 μ mol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/10}^4\text{cell)} [(\Delta\text{A测定}-\Delta\text{A空白}) \times \text{V反总} \div (\epsilon \times \text{d}) \times 10^6] \div (\text{V样} \div \text{V样总} \times 500) \div \text{T} = 4.262 \times 10^{-3} \times \Delta\text{A}$$

V反总：反应体系总体积，2.6 $\times 10^{-4}$ L； ϵ ：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，0.01 mL；V样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，1min；W：样品质量，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1 μ mol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/mL)} = [(\Delta\text{A测定}-\Delta\text{A空白}) \times \text{V反总} \div (\epsilon \times \text{d}) \times 10^6] \div \text{V样} \div \text{T} = 3.552 \times \Delta\text{A}$$

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1 μ mol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/mg prot)} = [(\Delta\text{A测定}-\Delta\text{A空白}) \times \text{V反总} \div (\epsilon \times \text{d}) \times 10^6] \div (\text{Cpr} \times \text{V样}) \div \text{T} = 3.552 \times \Delta\text{A} \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织每分钟催化产生1 μ mol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/g 鲜重)} = [(\Delta\text{A测定}-\Delta\text{A空白}) \times \text{V反总} \div (\epsilon \times \text{d}) \times 10^6] \div (\text{V样} \div \text{V样总} \times \text{W}) \div \text{T} = 3.552 \times \Delta\text{A} \div \text{W}$$

(3) 按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每万个细胞每分钟催化产生1 μ mol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/10}^4\text{cell)} [(\Delta\text{A测定}-\Delta\text{A空白}) \times \text{V反总} \div (\epsilon \times \text{d}) \times 10^6] \div (\text{V样} \div \text{V样总} \times 500) \div \text{T} = 7.103 \times 10^{-3} \times \Delta\text{A}$$

V反总：反应体系总体积，2.6 $\times 10^{-4}$ L； ϵ ：尿酸摩尔消光系数，1.22 $\times 10^4$ L/mol/cm；d：96孔板光径，0.6cm；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：样品质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细胞或细菌总数，500万。

注意事项：

- 1、正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定，保证吸光值变化在0.01~0.9之间。
- 2、试剂二加入试剂一后会有部分小颗粒，可以直接使用或者离心后使用，对实验结果基本无影响。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com