

## 黄嘌呤氧化酶（XOD）活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1158

产品规格：50管/48样

### 产品简介：

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。

XOD催化黄嘌呤产生尿酸，尿酸在290nm下有特征吸收峰。

**注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂二：粉剂置于试剂瓶内EP管中；
2. 工作液的配制：用时在试剂二中加入9.375mL试剂一充分溶解，用不完的试剂4℃可保存2周；按需用蒸馏水稀释10倍后备用，现用现配。

### 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、匀浆器/研钵、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

##### 1. 细菌、细胞或组织样本的制备：

细菌或细胞：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。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）样本：直接检测。

#### 二、测定操作

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至290nm，蒸馏水调零。
2. 测定前按需取出一定量的XOD检测工作液37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴20min以上；
3. 空白管：取1mLXOD检测工作液于1mL石英比色皿中，再加入35μL蒸馏水，混匀，立即测定290nm下的初始



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

吸光值A1和1min后的吸光值A2，计算 $\Delta A$ 空白=A2-A1。

4. 测定管：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，立即测定290nm 下的初始吸光值A3和1min后的吸光值A4，计算 $\Delta A$ 测定=A4-A3。

### 三、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1 $\mu$ mol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/mL)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{\text{样}} \div T = 2.424 \times \Delta A$$

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1 $\mu$ mol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/mg prot)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 2.424 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

- (2) 按样本质量计算：

单位的定义：每g组织每分钟催化产生1 $\mu$ mol尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/g 质量)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2.424 \times \Delta A \div W$$

- (3) 按细菌或细胞数量计算：

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

$$\text{XOD (U/10}^4\text{cell)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 4.848 \times 10^{-3} \times \Delta A$$

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，0.035mL；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；10<sup>6</sup>：单位换算系数，1mol=10<sup>6</sup> $\mu$ mol。

### 注意事项：

1. 当 $\Delta A$ 测定大于0.4或者A3大于1.1时建议用提取液稀释样本后进行测定。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com