

黄嘌呤氧化酶（XOD）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHC9-M48	黄嘌呤氧化酶(XOD)试剂盒	48T	微量法
AMHC9-M96		96T	微量法

一、测定意义：

黄嘌呤氧化酶（XOD）是一种重要的酶类，参与嘌呤代谢的过程。XOD 主要分布于哺乳动物的心、肺、肝脏等组织中，当肝脏功能受损时，XOD 大量释放到血清中，对肝脏的诊断具有特异性的意义。

二、测定原理：

XOD 催化次黄嘌呤产生黄嘌呤和超氧阴离子，超氧阴离子与盐酸羟胺反应生成 NO₂⁻，NO₂⁻在对氨基苯磺酰胺和萘乙二胺盐酸盐的作用下，生成紫红色的偶氮化合物，在 530nm 有特征吸收峰，根据其生成量可反映 XOD 活性的大小。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂一	液体 3mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	液体 3mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂三	液体 3mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂四	液体 4mL×1 瓶	液体 7mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂五	液体 4mL×1 瓶	液体 7mL×1 瓶	4℃ 保存
标准品	液体 1mL×1 支	液体 1mL×1 支	4℃ 保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

2、细菌/细胞：按照细胞数量（10⁴ 个）：试剂一体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 200W，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 5min）；然后 10000g，4℃ 离心 10min，取上清置于冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 530nm，蒸馏水调零。

2、将 10 $\mu\text{mol/mL}$ 标准液用蒸馏水稀释为 1、0.5、0.25、0.125、0.0625 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准溶液备用。

3、操作表

试剂名称	测定管	标准管	空白管
标准溶液 (μL)	-	10	-
样本 (μL)	10	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	10
试剂一 (μL)	40	40	40
试剂二 (μL)	40	40	40
试剂三 (μL)	40	40	40
混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴培养 20min			
试剂四 (μL)	60	60	60
试剂五 (μL)	60	60	60
混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴反应 20min, 于波长 530nm 读取吸光度, 分别记为 A 测定、A 标准、A 空白, 则 ΔA 样本=A 测定-A 空白, ΔA 标准=A 标准-A 空白。			

五、黄嘌呤氧化酶 (XOD) 活性计算:

1、按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol NO_2^- 定义为一个酶活单位。

$$\text{XOD 活性(U/mg prot)} = (\Delta A \text{ 样本} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标}) \times 10^3 \times V \text{ 样} \div (C_{\text{pr}} \times V \text{ 样}) \div T \times F$$

2、按样本质量计算:

酶活定义: 每克组织每分钟催化产生 1nmol NO_2^- 定义为一个酶活单位。

$$\text{XOD 活性(U/g 质量)} = (\Delta A \text{ 样本} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标}) \times V \text{ 提取} \times 10^3 \div W \div T \times F$$

3、按细菌或细胞数量计算:

酶活定义: 每万个细胞每分钟催化产生 1nmol NO_2^- 定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = (\Delta A \text{ 样本} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标}) \times V \text{ 提取} \times 10^3 \div 500 \div T \times F$$

4、按液体体积计算:

酶活定义: 每毫升液体每分钟催化产生 1nmol NO_2^- 定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD 活性 (U/mL)} = (\Delta A \text{ 样本} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标}) \times 10^3 \div T \times F$$

C 标: 标准溶液浓度;

10^3 : 单位换算系数, $1\mu\text{mol/mL}=10^3\text{nmol/mL}$;

T: 反应时间, 20min;

W: 样本质量, g;

V 提取: 提取液体积, 1mL;
Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;
500: 细胞或细菌总数, 500 万;
F: 稀释倍数。

六、注意事项:

ΔA 样本在 0.005-1 之间数据有效, 数值过大或过小, 可以增加样本量或稀释样本, 注意同步修改公式。