



黄嘌呤氧化酶 (XOD) 活性检测试剂盒
Xanthine Oxidase (XOD) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



黄嘌呤氧化酶 (XOD) 活性检测试剂盒

Xanthine Oxidase (XOD) Activity Assay Kit

一、产品描述

黄嘌呤氧化酶 (XOD) 是生物体内核酸代谢过程中的关键氧化还原酶类, 可以利用分子氧作为电子受体或亚甲基蓝、苯醌、高铁氰化物和硝酸盐等人工电子受体催化氧化黄嘌呤、蝶呤和醛类等多种杂环化合物, 并伴随产生过氧化氢和超氧自由基等活性氧, 具有重要的生理和病理功能, 在高尿酸血症的诊断、活性氧生理作用和氧化应激损伤等研究领域具有重要作用。

黄嘌呤氧化酶能够催化黄嘌呤生成尿酸, 产物在 290 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征黄嘌呤氧化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
反应缓冲液	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
基底液	组分 A	粉剂×2 支	使用前取 1 支组分 A 加入 1 mL 组分 B (超声促溶至充分溶解, 配制后 4°C 可保存 1 周)
	组分 B	液体 3 mL×1 瓶	
XOD 工作液的制备 (现用现配): 根据使用量将基底液使用反应缓冲液稀释 100 倍后即为 XOD 工作液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿 (光径 10 mm) /96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①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 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 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 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 20% 或 200 W, 超声 3 s, 间隔 10 s, 重复 30 次), 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 290 nm，蒸馏水调零。
- ②根据使用量取出适量 XOD 工作液 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）预热 20 min 以上。
- ③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	10	-
蒸馏水	-	10
XOD 工作液	200	200

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 290 nm 处初始吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②测定 60 s 时 290 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.黄嘌呤氧化酶 (XOD) 活性计算

3.1 使用微量石英比色皿进行测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 μmol 尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{1.721 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 μmol 尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{1.721 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化生成 1 μmol 尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{1.721 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 μmol 尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 1.721 \times \Delta A$$

3.2 使用 96 孔 UV 板进行测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 μmol 尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{3.443 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 μmol 尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{3.443 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化生成 1 μmol 尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{3.443 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 μmol 尿酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 3.443 \times \Delta A$$

注释： V 反总：反应体系总体积， 2.1×10^{-4} L；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； ϵ ：尿酸摩尔消光系数， 1.22×10^4 L/mol/cm； d_1 ：微量石英比色皿光径，1 cm； d_2 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；细菌或细菌总数，以万计；T：反应时间，1 min。

四、注意事项

①准确在规定时间内完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板进行检测时应使用多道移液器且分批进行，以确保组间反应时间一致；

②若 ΔA 大于 0.5 或 A1 测定大于 1.0 时，建议将粗酶液稀释后再进行测定，计算时相应修改；

③基质液配制后有效期较短，为便于试验安排，附赠一瓶基质液作为备用，每瓶均可满足至少 100 个样本的测定；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

