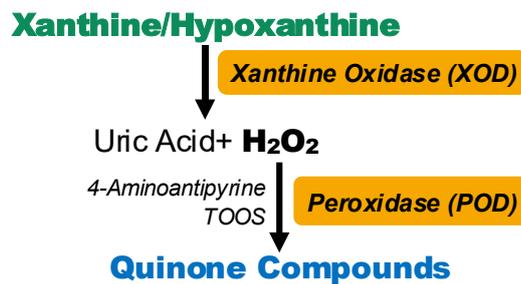




黄嘌呤/次黄嘌呤含量检测试剂盒

Xanthine And Hypoxanthine Content Assay Kit



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



黄嘌呤/次黄嘌呤含量检测试剂盒

Xanthine And Hypoxanthine Content Assay Kit

一、产品描述

黄嘌呤 (Xanthine) 和次黄嘌呤 (Hypoxanthine) 作为嘌呤代谢的核心中间体, 广泛参与机体的能量代谢与多种生理病理过程, 在药物研发与疾病治疗中具有重要应用价值。黄嘌呤和次黄嘌呤的代谢失衡 (如黄嘌呤氧化酶活性异常导致尿酸过量生成) 与高尿酸血症、痛风等疾病的发生密切相关。

黄嘌呤与次黄嘌呤在黄嘌呤氧化酶 (XOD) 作用下生成过氧化氢, 过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 催化 H_2O_2 氧化 4-氨基安替比林, 使其与 TOOS 发生偶联反应, 生成稳定的紫红色醌亚胺化合物, 产物在 550 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可定量检测黄嘌呤与次黄嘌呤的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液 A	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 8 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 8 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体 8 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	10 μ mol/mL 黄嘌呤标准液
标准应用液的制备 (现用现配): 使用前将 10 μ mol/mL 黄嘌呤标准液使用蒸馏水至 0.4 μ mol/mL 即为标准应用液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、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. 待测样本的制备 (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 A 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 A) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 8000 g 离心 10 min, 吸取 800 μ L 上清液至离心管中, 加入 150 μ L 提取液 B 充分混匀至无气泡产生, 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清液置于冰上待测。

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 A 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 A），冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 8000 g 离心 10 min，吸取 800 μ L 上清液至离心管中，加入 150 μ L 提取液 B 充分混匀至无气泡产生，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清液于冰上待测。

③液体样本：澄清无色液体样品可以直接测定或使用蒸馏水适当稀释后再进行测定。如有浑浊，可 4°C 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

注：提取液 B 加入后会产生大量气泡，应缓慢加入并吹打混匀至无气泡产生，建议使用 2 mL 离心管。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 550 nm。

②试验前将试剂一、试剂二和试剂三置于 25°C 预热 10 min 以上。

③检测工作液 A 的制备（现配现用）：使用前根据使用量按照试剂一：试剂三=13:6 的体积比配制，配制后 24 小时有效。

④检测工作液 B 的制备（现配现用）：使用前根据使用量按照试剂二：试剂三=13:6 的体积比配制，配制后 24 小时有效。

⑤在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μ L)	对照组 (μ L)	标准组 (μ L)	空白组 (μ L)
待测样本	50	50	-	-
标准应用液	-	-	50	-
蒸馏水	-	-	-	50
检测工作液 A	190	-	190	190
检测工作液 B	-	190	-	-

充分混匀，37°C 反应 30 min

吸光值测定：测定 550 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：每个样本均需设一个对照组，标准组和空白组只需测定 1-2 次。

3.黄嘌呤/次黄嘌呤含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{XAN/HX 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{\Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提B}}) \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{上清}}} = \frac{0.475 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{XAN/HX 含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{\Delta A \text{ 测定} \times C \text{ 标} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}} \times D}{\Delta A \text{ 标准} \times W \times V_{\text{上清}}} = \frac{0.475 \times \Delta A \text{ 测定} \times D}{\Delta A \text{ 标准} \times W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{XAN/HX 含量 } (\mu\text{mol}/10^4\text{cell}) = \frac{\Delta A \text{ 测定} \times C \text{ 标} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}} \times D}{\Delta A \text{ 标准} \times \text{cell} \times V_{\text{上清}}} = \frac{0.475 \times \Delta A \text{ 测定} \times D}{\Delta A \text{ 标准} \times \text{cell}}$$

④液体样本体积计算

$$\text{XAN/HX 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{\Delta A \text{ 测定} \times C \text{ 标} \times D}{\Delta A \text{ 标准}} = \frac{0.4 \times \Delta A \text{ 测定} \times D}{\Delta A \text{ 标准}}$$

注释: C 标: 黄嘌呤标准应用液浓度, 0.4 $\mu\text{mol/mL}$; $V_{\text{提 A}}$: 组织、细菌或细胞样本提取过程中加入提取液一的体积, 1 mL; $V_{\text{提 B}}$: 组织、细菌或细胞样本提取过程中加入提取液二的体积, 0.15 mL; $V_{\text{上清}}$: 提取过程中上清液的体积, 0.8 mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; cell: 细菌或细胞数量, 以万计, 若 500 万细菌或细胞数量则代入 500 即可; D: 待测样本稀释倍数, 若未稀释则为 1。

四、注意事项

①若 ΔA 测定大于 0.8, 建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定; 若 ΔA 小于 0.02, 建议制备更高浓度的样本后再进行测定, 计算时相应修改;

②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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

