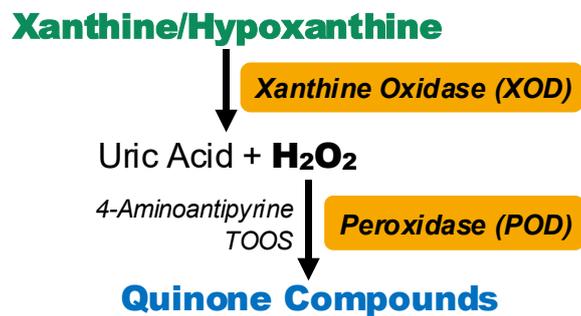




黄嘌呤氧化酶活性抑制能力检测试剂盒
Xanthine Oxidase Activity Inhibition Assay Kit



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



黄嘌呤氧化酶活性抑制能力检测试剂盒

Xanthine Oxidase Activity Inhibition Assay Kit

一、产品描述

黄嘌呤氧化酶(XOD)是一种广泛存在于生物体内的含钼黄素蛋白的氧化还原酶类,作为嘌呤代谢通路中的关键酶,可催化次黄嘌呤转化为黄嘌呤,并进一步生成尿酸及 H₂O₂。黄嘌呤氧化酶活性过高易造成尿酸过量积累进而引发高尿酸血症,导致痛风等疾病,抑制其活性是控制尿酸生成的关键策略,黄嘌呤氧化酶抑制剂可通过非竞争性抑制黄嘌呤氧化酶的活性,从而减少尿酸合成达到治疗痛风和高尿酸血症的目的,在高尿酸血症的治疗和氧化应激损伤等研究领域具有重要作用。

黄嘌呤氧化酶催化黄嘌呤产生尿酸及 H₂O₂,过氧化物酶进一步催化 H₂O₂ 氧化 4-氨基安替比林和苯酚类似物,生成紫红色产物,产物在 550 nm 处具有特征吸收峰,黄嘌呤氧化酶抑制剂加入后通过抑制黄嘌呤氧化酶活性从而减少 H₂O₂ 生成,下降幅度直接反映样品的抑制能力强弱,通过吸光值变化即可表征对黄嘌呤氧化酶活性抑制能力,结果通常以抑制率或 IC₅₀值表示。

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	液体 80 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 14 mL×1 瓶	-20°C保存	建议-20°C分装保存,避免反复冻融
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 1.5 mL×1 支	4°C保存	-
阳性对照	液体 1 mL×1 支	4°C保存	1 mg/mL 非布司他溶液 (使用后 4°C分装保存,避免反复冻融)

注:非布司他溶液 4°C凝固为正常现象,25°C水浴完全溶解后使用。

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℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。注：若液体样本浑浊，建议 4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③抑制剂粉剂：水溶性样本建议使用蒸馏水提取或溶解；非水溶性样本建议使用相应有机溶剂（如 DMSO）提取或溶解。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 550 nm。

②检测工作液的制备（现配现用）：使用前根据使用量按照试剂一：试剂二=11:5 的体积比配制。

③在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)	空白组 1 (μL)	空白组 2 (μL)	阳性组 (μL)
待测样本	20	20	-	-	-
样本溶剂	-	-	20	20	-
阳性对照	-	-	-	-	20
检测工作液	160	160	160	160	160
充分混匀，37℃准确反应 10 min					
试剂三	20	-	20	-	20
蒸馏水	-	20	-	20	-
充分混匀，37℃准确反应 20 min					

注：①水溶性样本，样本溶剂为蒸馏水；非水溶性样本，样本溶剂为相应有机溶剂。②若需抑制曲线，可将 1 mg/mL 非布司他溶液使用 DMSO 稀释至不同浓度（浓度为 40 ng/mL，抑制率为 45%左右）测定 A 阳性和 A 空 2。

吸光值测定（5 min 内完成测定）：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 550 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 空 1、A 空 2 和 A 阳性；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空 1}} - A_{\text{空 2}}$ ， $\Delta A_{\text{阳性}} = A_{\text{阳性}} - A_{\text{空 2}}$ 。注：每个样本均需设一个对照组，空白组 1 和空白组 2 只需测定 1-2 次，阳性组为选做组可根据试验需要设计使用。

3.黄嘌呤氧化酶（XOD）活性抑制百分率计算

3.1 黄嘌呤氧化酶（XOD）活性抑制率计算

$$\text{黄嘌呤氧化酶活性抑制率 (\%)} = \frac{\Delta A_{\text{空白}} - \Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

注：抑制百分率应控制在 20-70% 范围内，若抑制百分率小于 20% 或大于 70%，则需要调整后重新测定；若抑制百分率大于 70%，建议将待测样本使用提取液或有机试剂适当稀释后再进行测定；若抑制百分率低于 20%，建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改。

3.2 IC50 值的测定方法

IC50 是指抑制剂引起酶活性抑制达到 50% 时的浓度，即半抑制浓度。对于能够抑制黄嘌呤氧化酶活性的样本，可将其配制成不同浓度梯度进行测试。以样本浓度为横坐标，抑制率为纵坐标绘制剂量-效应曲线，通过该曲线即可计算出抑制率为 50% 时所对应的样本浓度，即 IC50 值。

四、注意事项

① 准确在规定时间点完成吸光值测定，以确保检测结果的准确性和重复性；若样本较多建议使用多道移液器且分批进行检测；

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.

