

黄嘌呤氧化酶（XOD）试剂盒

- 【产品简介】**
- ◆黄嘌呤氧化酶(XOD, EC 1.17.3.2)属需氧脱氢酶类,是活性氧主要来源之一,也是核苷酸代谢的关键酶之一。XOD主要分布于哺乳动物的肝脏等组织中,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催化次黄嘌呤产生超氧阴离子,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 α-萘胺的作用下,生成紫红色的偶氮化合物,在540nm有特征吸收峰,根据其生成量可反映XOD活性的大小。

【货 号】 TMC025

【规 格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
提取液	液体110mL×1瓶	4℃	
试剂一	液体30mL×1瓶	4℃	
试剂二	液体4mL×1支	4℃	
试剂三	液体24mL×1瓶	4℃	
试剂四	液体20mL×1瓶	4℃	
试剂五	液体20mL×1瓶	4℃	临用前,可依据待检测样本数量,把试剂四和试剂五等比例混合成无色的反应mix(注意观察,若变粉色,则不能使用)。两天之内用完。
标准品	粉剂mg×1支	4℃	若重新做标曲,则用到该试剂。

【保存条件】 4℃保存,有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备:

①组织样本:

称取约0.1g组织加入研钵中,加入1mL提取液,进行冰浴匀浆,12000rpm,4℃离心10min,取上清液,置冰上待测。

注:也可以按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

②细菌/真菌样本:

先收集细菌或细胞到离心管内,离心弃上清;取500万细菌或细胞加入1mL提

取液;冰浴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);12000rpm, 4℃离心10min,取上清液,置冰上待测。

注:也可按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③液体样本:直接检测,若浑浊则离心3000-3500r/min,10分钟后取,弃去上层脂肪,取澄清上清检测。

2、上机检测:

①酶标仪预热30min以上,调节波长到540nm。

②测定前将试剂一、二和三25℃水浴 5min 以上。

③用排枪操作,以减小各孔间因加入试剂时间先后导致的误差。

④在EP管中依次加入:

试剂名称(uL)	测定管	对照管
样本	30	30
试剂一	90	120
试剂二	30	
试剂三	75	75
混匀, 37℃水浴或恒温培养箱孵育20min		
反应mix	150	150
混匀, 37℃反应10min(准确时间), 立即取出200uL至96孔板中(若浑浊可于8000rpm 室温下离心5min后取200uL上清液), 于540nm处检测读取吸光度A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本需做一个自身对照)。		

⑤标准曲线结果计算①由标准品测定获得,如需重制见随货说明书或咨询。

3、结果计算:

①标准曲线方程为 $y = 0.061x - 0.0013$; x 是 NO_2^- 的浓度nmol, y 为 ΔA 。

②按照样本质量计算:

酶活定义:37℃下每克组织样本每分钟催化产生1nmol NO_2^- 为一个酶活单位(U)。

$$\begin{aligned} \text{XOD活性 (U/g鲜重)} &= [(\Delta A + 0.0013) \div 0.061] \div (V1 \div V \times W) \div T \times D \\ &= 27.3 \times (\Delta A + 0.0013) \div W \times D \end{aligned}$$

③按细菌/细胞计算:

酶活定义:37℃下每百万细胞每分钟催化产生1nmol NO_2^- 为一个酶活单位(U)

$$\begin{aligned} \text{XOD活性 (U/10}^6\text{cell)} &= [(\Delta A + 0.0013) \div 0.061] \div (V1 \div V \times 500) \div T \times D \\ &= 27.3 \times (\Delta A + 0.0013) \div 5 \times D \end{aligned}$$

④按照液体体积计算:

酶活定义:37℃下每毫升液体样本每分钟催化产生1nmol NO_2^- 为一个酶活单位(U)。

$$\text{XOD活性 (U/mL)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.061] \div V1 \div T \times D = 27.3 \times (\Delta A + 0.0013) \times D$$

V—提取液体积, 1 mL; V1—加入反应体系的样本量(mL), 0.03mL;

T—反应时间(min), 20 min; D—稀释倍数, 未稀释即为 1;

W---样品质量；

5---细胞数量，百万；

- 【注意事项】**
- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
 - 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
-