

## 黄嘌呤氧化酶（xanthine oxidase, XOD）试剂盒说明书

（分光法 48 样）

### 一、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。

黄嘌呤氧化酶（XOD）催化黄嘌呤氧化生成尿酸和超氧阴离子自由基，接着与显色剂反应生成有色物质，通过检测有色物质的生成量多少即可计算得出 XOD 酶活性大小。

### 二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 mg×1 支	-20℃保存	使用前甩几下使粉剂落入底部，再加 1.6mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 40mL×1 支	4℃保存	
试剂三	粉体 mg×2 瓶	4℃保存	使用前甩几下使粉剂落入底部，再分别加 9mL 试剂二超声溶解备用。 现配现用。

### 三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、低温离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

### 四、黄嘌呤氧化酶（XOD）的测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

#### 1、样本制备

##### ① 组织样本：

取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，在 4℃ 或冰浴进行匀浆(或使用各类常见匀浆器)。4℃×12000rpm 离心 10min，取上清作为待测液。

**【注】：**若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取

##### ② 液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

#### 2、上机检测

① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 450nm，蒸馏水调零。

② 测定前将试剂一、二和三 25℃水浴 5min 以上。

③ 试剂三每次加样前**务必**混匀，保证试剂的均一性。

④ 在 EP 管中依次加入：

试剂名称（ $\mu\text{L}$ ）	测定管
样本	60
试剂一	30
试剂二	320
试剂三	320
37℃避光孵育，立即于 450nm 读取吸光值	

A1, 30min 后读取 A2,  $\Delta A=A2-A1$ 。

【注】: 若 $\Delta A$  在零附近徘徊, 可延长反应时间 T (如增至 60min) 或加大样本量 V1 (如增加至 100 $\mu$ L, 则试剂二相应减少), 则改变后的反应时间 T 和样本量 V1 需代入计算公式重新计算。

## 五、结果计算:

### 1. 按样本鲜重计算:

酶活定义: 37 $^{\circ}$ C 下每克组织样本每分钟催化产生 1nmol 有色物质为一个酶活单位 (U)。

$$\text{XOD 活性(U/g 鲜重)}=(\Delta A \div \varepsilon \div d \times V2 \times 10^9) \div (W \times V1 \div V) \div T=13.1 \times \Delta A \div W$$

### 2. 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 37 $^{\circ}$ C 下每毫克蛋白样本每分钟催化产生 1nmol 有色物质为一个酶活单位 (U)。

$$\text{XOD 活性(U/mg prot)}=(\Delta A \div \varepsilon \div d \times V2 \times 10^9) \div (V1 \times \text{Cpr})=13.1 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

### 3. 按液体体积计算:

酶活定义: 37 $^{\circ}$ C 下每毫升样本每分钟催化产生 1nmol 有色物质为一个酶活单位 (U)。

$$\text{XOD 活性(U/mL)}=(\Delta A \div \varepsilon \div d \times V2 \times 10^9) \div V1 \times D=13.1 \times \Delta A$$

V---提取液体积, 1 mL;

V1---加入反应体系中样本体积, 0.06ml;

d---光径, 1cm;

V2---反应体系总体积, 730 $\mu$ L =7.3 $\times 10^{-4}$ L;

$\varepsilon$ ---甲贲物质的摩尔消光系数, 3.1 $\times 10^4$  L /mol/cm;

T---反应时间, 30min;

W---样本质量, g;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL ; 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。