

黄嘌呤氧化酶（XOD）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1041

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、血清或血浆

产品简介

黄嘌呤氧化酶（EC 1.17.3.2）或黄嘌呤氧化还原酶是人体中嘌呤分解代谢的末端酶，催化次黄嘌呤羟基化为黄嘌呤，然后催化生成尿酸。当作为 NADH 氧化酶时，XOD 是超氧化物（ O_2^- ）的生成物，超氧化物（ O_2^- ）是一种强大的活性氧（ROS）。XOD 也是核苷酸代谢的关键酶之一。XOD 主要分布于哺乳动物的心、肺、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。本试剂盒提供一种简单易用的测定法，用于检测各种生物样本中 XOD 活性，其原理是 XOD 催化黄嘌呤产生超氧阴离子，超氧阴离子与盐酸羟胺反应生成 NO_2^- ， NO_2^- 在对氨基苯磺酰胺和萘乙二胺盐酸盐的作用下，生成红色的偶氮化合物，在 540nm 处有特征吸收峰，根据其生成量可反映 XOD 活性的大小。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
提取液	60mL	120mL	4℃保存
试剂一	1mL	2mL	4℃保存
试剂二	5mLzZ	10mL	4℃保存
试剂三	4mL	8mL	4℃避光保存
试剂四	4mL	8mL	4℃避光保存
NaNO ₂ 标准品（10mM）	0.5mL	0.5mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）及水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

标准曲线设置：取 20μL 的 NaNO₂ 标准品（10mM），加入 980μL 提取液稀释至 200μmol/L，然后按下表所示，用提取液进一步稀释标准品。

产品说明书

	200 μ mol/L NaNO ₂ 标准品体积 (μ L)	提取液体积 (μ L)	标准品浓度 (μ mol/L)
Std. 1	200	0	200
Std. 2	100	100	100
Std. 3	50	150	50
Std. 4	20	180	20
Std. 5	10	190	10
Std. 6	5	195	5
Std. 7	2	198	2
Std. 8	1	199	1

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动物组织：称取 0.1g 组织，加 1mL 提取液进行冰浴匀浆。12,000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

植物组织：称取 0.1g 组织，尽量剪碎，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆或冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次）。12,000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

细胞：收集 5×10^6 个细胞，用冷 PBS 清洗细胞后弃上清，加入 1mL 预冷的提取液冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次）。12,000g，4℃，离心 10min，取上清，置冰上待测。

血清（浆）、细胞上清等液体样本：直接测定。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定：

	空白管 (μ L)	标准管 (μ L)	测定管 (μ L)	对照管 (μ L)
不同浓度标准品	0	40	0	0
样本	0	0	40	40
提取液	90	50	50	140
试剂一	10	10	10	0
试剂二	80	80	80	0

混匀，37℃水浴 20min

试剂三	60	60	60	60
试剂四	60	60	60	60

混匀，37℃水浴 20min，对反应管进行短暂离心以去除不溶物，吸取 200 μ L 上清于 96 孔板或微量玻璃比色皿中测定 540nm 处吸光值，记为 $A_{空}$ 、 $A_{标}$ 、 $A_{测}$ 。计算 $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标准} - A_{空白}$ （空白管只需测定 1 次）。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{测}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测}$ 大于 1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

产品说明书

结果计算

1. 标准曲线的绘制:

以标准溶液浓度为 y 轴, $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴, 绘制标准曲线 (浓度为 y 轴更方便计算结果)。 $\Delta A_{\text{测}}$ 带入方程得到 y 值 ($\mu\text{mol/L}$ 即 nmol/mL)。

2. 黄嘌呤氧化酶活性的计算:

(1) 按样本鲜重计算:

活性单位的定义: 每 g 组织在反应体系中每分钟催化产生 1nmol NO_2^- 定义为一个酶活力单位。

黄嘌呤氧化酶活性 (U/g 鲜重) = $y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times n = 0.225y \div W \times n$

(2) 按样本蛋白浓度计算:

活性单位的定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1nmol NO_2^- 定义为一个酶活力单位。

黄嘌呤氧化酶活性 (U/mg prot) = $y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T \times n = 0.225y \div \text{Cpr} \times n$

(3) 按细胞数量计算:

活性单位的定义: 每万个细胞在反应体系中每分钟催化产生 1nmol NO_2^- 定义为一个酶活力单位。

黄嘌呤氧化酶活性 ($\text{U}/10^4 \text{ cell}$) = $y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T \times n = 0.225y \div 500 \times n = 0.00045y \times n$

(4) 按照液体样本体积计算:

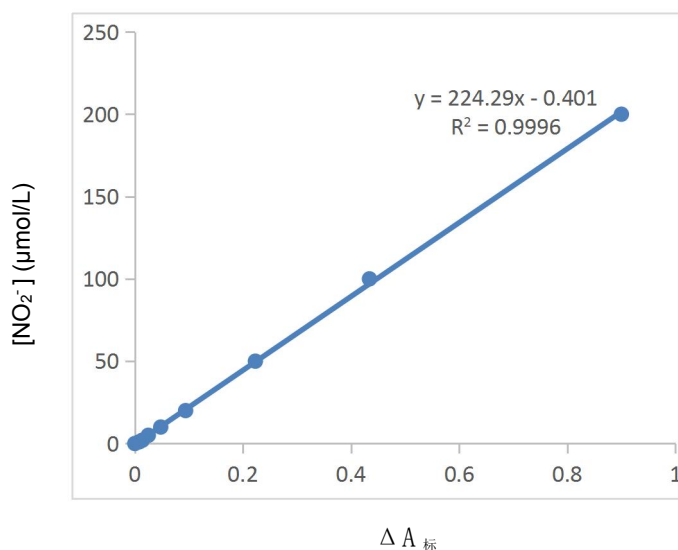
活性单位的定义: 每毫升液体样本在反应体系中每分钟催化产生 1nmol NO_2^- 定义为一个酶活力单位。

黄嘌呤氧化酶活性 (U/mL) = $y \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \times n = 0.225y \times n$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.18mL ; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.04mL ; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL ; W : 样品质量, 0.1g ; T : 反应时间, 20min ; n : 样本稀释倍数; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL ; 500 : 细胞数量, 500万 。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考, 实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

- PMK1036 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1037 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1038 过氧化物酶 (POD) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1039 过氧化氢 (H_2O_2) 检测试剂盒 (微量法)



产品说明书

PMK1040 丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号: