黄嘌呤氧化酶(XOD)试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使用说明书

货号：JL-T0926　　**有 效 期：**6 个月

规格：48T(48S)/96T(96S)　　**保存温度：**2-8℃

实验原理：

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。本试剂盒检测组织和细胞样本时，可按照蛋白浓度计算，推荐使用 BCA 法（货号：JL-T0336）。

检测范围：0.03-30.96U/mL　　灵敏度：0.03U/mL

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号和批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成：

试剂名称	规格（48T/48S）	规格（96T/96S）	保存条件
试剂一	3.5mL×1 瓶	7mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	0.5mL×1 瓶	1mL×1 瓶	2-8℃，避光
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃，避光
试剂四	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、恒温箱、0.9%NaCl。

样本处理及要求：

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.03-30.96U/mL，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为蒸馏水。

2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。

3. **组织样本**：按照组织质量(g)：0.9%NaCl 体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 0.9%NaCl)冰浴匀浆，10000 g，4℃离心 10min，取上清待测。

4. **血清（浆）等液体样本：**直接测定，若浑浊，则离心后取上清液检测。

5. **细菌/细胞样本**：按照细菌或细胞数量(10^4)：0.9%NaCl 体积(mL)为 500~1000:1 的比例(建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 0.9%NaCl)，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)；10000 g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **试剂三：**临用前取一瓶试剂三加 1.5mL 蒸馏水溶解备用，现配现用。
3. **试剂四：**临用前取一瓶试剂四加 5mL 蒸馏水超声溶解备用，现配现用。

操作步骤：

1. **酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm。**
2. **样本测定（在 96 孔板中依次加入）：**

试剂名称(μL)	测定管
样本	20
试剂一	70
试剂二	10
试剂三	20
试剂四	80
混匀，酶标仪 450nm 波长下检测 OD 值为 A_1。37℃孵育 30min 后，酶标仪 450nm 波长下检测 OD 值为 A_2。	

注：

如果 A_2-A_1 接近于零，可延长反应时间，如延长至 10min 读取 A_2，则计算公式的反应时间为 40min。

实验结果结算：

1. 按照样本蛋白浓度计算：

酶活定义:37℃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)。

XOD 活性(U/mg prot)=($\triangle$A÷E÷d×V_2×10^9)÷(V_1×Cpr)÷T×N=17.2×$\triangle$A÷Cpr×N

2. 按样本鲜重计算：

酶活定义:37℃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)。

XOD 活性(U/g 鲜重)=($\triangle$A÷E÷d×V_2×10^9)÷(W×V_1÷V)÷T×N=17.2×$\triangle$A÷W×N

3. 按细胞数量计算：

酶活定义:每 10 个细胞每分钟催化产生 1nmol 有色物质为一个酶活单位(UD)。

XOD 活性(U/10^6cell)=($\triangle$A÷E÷d×V_2×10^9)÷(5×V_1÷V)÷T×N=17.2×$\triangle$A÷5×N

4. 按液体体积计算：

酶活定义:37℃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)。

XOD 活性(U/mL)=($\triangle$A÷E÷d×V_2×10^9)÷V_1÷T×N=17.2×$\triangle$A×N

注：

V：提取液体积，1mL

Cpr：粗酶液蛋白质浓度，mg/mL

V_1：样本体积，0.02mL

V_2：反应体系总体积，200μL=2×10^{-4}L

T：反应时间，30min

$\triangle A$：A_2-A_1

500：细胞数量，万

W：样本鲜重，g

ε：甲臜物质的摩尔消光系数，3.1×10^4L/mol/mL

d：比色光径=体积÷底面积，标准 96 孔平底板底面积 0.32cm²中加入 0.2mL 液体时光径为 0.625

N：样本稀释倍数

参考样本数据：

以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
大鼠肝脏（10%匀浆）	不稀释	112.7U/g
小鼠肝脏（10%匀浆）	不稀释	213.6U/g
大鼠肾脏（10%匀浆）	不稀释	81.14U/g
大鼠肺（10%匀浆）	不稀释	3.81U/g

咨询电话：400-0066-400

传　　真：021-55660885

电子邮箱：shjlsw@163.com

网　　址：www.jonln.com