

黄嘌呤氧化酶（XOD）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC1095

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 120 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 1mL×1 支	2-8℃保存
试剂四	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 8 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂六	液体 8 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

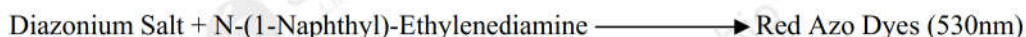
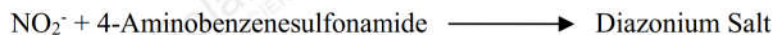
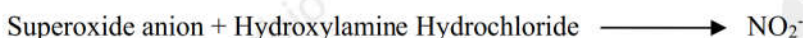
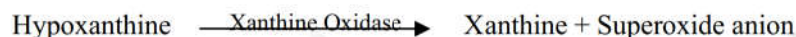
溶液的配制：

- 1、试剂三：根据样本量再用试剂二稀释 5 倍后备用。用不完的试剂 2-8℃可保存 1 周。
- 2、标准品：10μmol/mL 亚硝酸钠。

产品说明：

XOD（EC 1.17.3.2）催化次黄嘌呤氧化生成黄嘌呤和超氧阴离子，是活性氧主要来源之一；同时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。

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萘乙二胺盐酸盐的作用下，生成紫红色的偶氮化合物，在530nm有特征吸收峰，根据其生成量可反映XOD活性的大小。



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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、匀浆器/研钵、细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）





1. 细菌或细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：试剂一体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
2. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
3. 血清（浆）样本等液体样本：直接检测。若有沉淀，离心后测定。

二、测定步骤

- 1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至530nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 2、标准液的稀释：将标准液用蒸馏水稀释至0.25μmol/mL的标准液（可以吸取25μL 10μmol/mL 亚硝酸钠和 975μL蒸馏水混合）。
- 3、操作表

试剂名称（μL）	空白管	测定管	标准管
蒸馏水	10	-	-
上清液	-	10	-
标准液	-	-	10
试剂一	40	40	40
试剂三	40	40	40
试剂四	40	40	40
混匀，37℃水浴/恒温培养箱放置 20min			
试剂五	60	60	60
试剂六	60	60	60
混匀，37℃水浴/恒温培养箱放置 20min，于微量玻璃比色皿/96 孔板中，测定 530nm 处吸光值，计算 ΔA 标准=A 标准管-A 空白管， ΔA 样本=A 测定管-A 空白管。空白管和标准管只需做 1-2 次。 注： ΔA 样本在 0.005-1 之间数值有效，数值过小或过大，可以增加或者稀释样本量。			

三、XOD 活性计算

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白每分钟催化产生1nmol NO₂⁻定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{XOD活性 (U/mg prot)} &= (\Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标}}) \times 10^3 \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \times F \\ &= 12.5 \times \Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算：

单位的定义：每g组织每分钟催化产生1nmol NO₂⁻定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{XOD活性 (U/g 质量)} &= (\Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标}}) \times V_{\text{提取}} \times 10^3 \div W \div T \times F \\ &= 12.5 \times \Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F \end{aligned}$$

(3) 按细菌或细胞数量计算：

单位的定义：每万个细胞每分钟催化产生1nmol NO₂⁻定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{XOD活性 (U/10}^4 \text{ cell)} &= (\Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标}}) \times V_{\text{提取}} \times 10^3 \div 500 \div T \times F \\ &= 0.025 \times \Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F \end{aligned}$$

(4) 按液体体积计算：

单位的定义：每毫升液体每分钟催化产生1nmol NO₂⁻定义为一个酶活力单位。

$$\text{XOD活性 (U/mL)} = (\Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标}}) \times 10^3 \div T \times F = 12.5 \times \Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$$



10^3 : 单位换算系数, $1\mu\text{mol}=10^3\text{nmol}$; C标: 标准溶液浓度, $0.25\mu\text{mol/mL}$; T: 反应时间, 20min; W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL ; V提取: 试剂一体积, 1mL ; 500: 细胞或细菌总数, 500万; F: 稀释倍数。

实验实例:

1、取 0.1011g 兔肾脏加入 1mL 试剂一进行冰浴匀浆, 8000g 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上, 之后按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 ΔA 样本 = A 测定管 - A 空白管 = $0.155 - 0.052 = 0.103$, ΔA 标准 = A 标准管 - A 空白管 = $0.450 - 0.052 = 0.398$, 按样本质量计算酶活得:

$$\text{XOD 活性 (U/g 质量)} = 12.5 \times \Delta A \text{ 样本} \div \Delta A \text{ 标准} \times W \times F = 32.0 \text{ U/g 质量}。$$

2、取 0.01mL 牛奶, 加入 0.99mL 试剂一, 即稀释 100 倍后直接测定, 之后按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 ΔA 样本 = A 测定管 - A 空白管 = $0.059 - 0.052 = 0.007$, ΔA 标准 = A 标准管 - A 空白管 = $0.450 - 0.052 = 0.398$, 按样本体积计算酶活得:

$$\text{XOD 活性 (U/mL)} = 12.5 \times \Delta A \text{ 样本} \div \Delta A \text{ 标准} \times F = 22.0 \text{ U/mL}。$$

相关发表文献:

[1] Wang R, Pan J, Han J, Gong M, Liu L, Zhang Y, Liu Y, Wang D, Tang Q, Wu N, Wang L, Yan J, Li H, Yuan Y. Melatonin Attenuates Dasatinib-Aggravated Hypoxic Pulmonary Hypertension via Inhibiting Pulmonary Vascular Remodeling. *Front Cardiovasc Med.* 2022 Mar 24; 9:790921. doi: 10.3389/fcvm.2022.790921. PMID: 35402542; PMCID: PMC8987569.

[2] Zhou Y, Zeng Y, Pan Z, Jin Y, Li Q, Pang J, Wang X, Chen Y, Yang Y, Ling W. A Randomized Trial on Resveratrol Supplement Affecting Lipid Profile and Other Metabolic Markers in Subjects with Dyslipidemia. *Nutrients.* 2023 Jan 17;15(3):492. doi: 10.3390/nu15030492. PMID: 36771199; PMCID: PMC9921501.

[3] Li D, Zhuang S, Peng Y, Tan Y, Hong H, Luo Y. Mechanism of Inosine Monophosphate Degradation by Specific Spoilage Organism from Grass Carp in Fish Juice System. *Foods.* 2022 Sep 2;11(17):2672. doi: 10.3390/foods11172672. PMID: 36076856; PMCID: PMC9455830.

[4] Liu HB, Yang M, Li W, Luo T, Wu Y, Huang XY, Zhang YL, Liu T, Luo Y. Dispelling Dampness, Relieving Turbidity and Dredging Collaterals Decoction, Attenuates Potassium Oxonate-Induced Hyperuricemia in Rat Models. *Drug Des Devel Ther.* 2023 Aug 2; 17:2287-2301. doi: 10.2147/DDDT.S419130. PMID: 37551408; PMCID: PMC10404409.

[5] Cui W, Zhou H, Zhang J, Zhang J, Wu D, Rong Y, Liu F, Liu J, Liu H, Wei B, Tang Y, Liao X, Xu X. Hepatoprotective effect of Artemisia Argyi essential oil on bisphenol A-induced hepatotoxicity via inhibition of ferroptosis in mice. *Environ Toxicol.* 2023 Oct;38(10):2416-2428. doi: 10.1002/tox.23877. Epub 2023 Jun 22.

相关系列产品:

BC3590/BC3595 过氧化氢 (H_2O_2) 含量检测试剂盒

BC0690/BC0695 葡萄糖氧化酶 (GOD) 活性检测试剂盒

BC1270/BC1275 蛋白质羰基含量检测试剂盒

BC1280/BC1285 二胺氧化酶 (DAO) 活性检测试剂盒

