

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

**产品货号：GBQ228**

**产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)**

**检测仪器：酶标仪(540-560 nm)**

## **Elabscience®黄嘌呤氧化酶（XOD）比色法测试盒**

### **Xanthine Oxidase (XOD) Activity Assay Kit**

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：[biochemical@elabscience.cn](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆及动物组织样本中的黄嘌呤氧化酶的活力。

检测原理

黄嘌呤氧化酶(Xanthine Oxidase, XOD)主要存在于哺乳动物的乳汁及肝脾中，属需氧脱氢酶类，是体内核酸代谢中的重要酶。在肝细胞损伤时，此酶早于 SGPT 释放于血清中，并且升高明显，其对鉴别肝细胞性黄疸及阻塞性黄疸有明显的测定意义，在缺氧过程中黄嘌呤脱氢酶很快形成黄嘌呤氧化酶，黄嘌呤氧化酶对自由基的产生起了重要作用。

XOD 可催化次黄嘌呤生成黄嘌呤，与此同时产生超氧阴离子自由基，当有电子受体及显色剂存在的情况下，生成紫红色结合物，根据后者生成量的多少可以推算出 XOD 的活力。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法。(货号：GBQ162)。

提供试剂和物品

| 编号                 | 名称                                                | 规格 1<br>(Size 1)(48 T) | 规格 2<br>(Size 2)(96 T) | 保存方式<br>(Storage)  |
|--------------------|---------------------------------------------------|------------------------|------------------------|--------------------|
| 试剂一<br>(Reagent 1) | 缓冲液<br>(Buffer Solution)                          | 10 mL×1 瓶              | 20 mL×1 瓶              | -20℃<br>保存 6 个月    |
| 试剂二<br>(Reagent 2) | 底物溶液<br>(Substrate Solution)                      | 0.5 mL×1 支             | 1 mL×1 支               | -20℃ 避光保<br>存 6 个月 |
| 试剂三<br>(Reagent 3) | 酶试剂<br>(Enzymatic Reagent)                        | 0.5 mL×1 支             | 1 mL×1 支               | -20℃ 避光保<br>存 6 个月 |
| 试剂四<br>(Reagent 4) | 显色剂 1<br>(Chromogenic Agent 1)                    | 0.8 mL×1 支             | 1.6 mL×1 支             | -20℃ 避光保<br>存 6 个月 |
| 试剂五<br>(Reagent 5) | 显色剂 2<br>(Chromogenic Agent 2)                    | 0.8 mL×1 支             | 1.6 mL×1 支             | -20℃ 避光保<br>存 6 个月 |
| 试剂六<br>(Reagent 6) | 1 mmol/L 标准品溶液<br>(1 mmol/L Standard<br>Solution) | 1.6 mL×1 支             | 3.2 mL×1 瓶             | -20℃<br>保存 6 个月    |

|  |         |          |     |
|--|---------|----------|-----|
|  | 96 孔酶标板 | 96 孔×1 块 | 无要求 |
|  | 96 孔覆膜  | 2 张      |     |
|  | 样本位置标记表 | 1 张      |     |

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，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。

## 所需自备物品

**仪器：**酶标仪(540-560 nm，最佳检测波长 550 nm)、37℃ 恒温箱

**试剂：**双蒸水，生理盐水(0.9 %NaCl)

## 试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 显色剂工作液的配制：

将试剂四:试剂五按体积比 = 1: 1 配制，现配现用，按需配制，避光待用，配好的显色剂显色剂工作液1 h用完。

③ 工作液的配制：

将试剂一:试剂二:试剂三:显色剂工作液按体积比=147 : 6.5 : 6.5 : 20配制，避光待用，现配现用。

④ 不同浓度标准品的稀释：

| 编号               | ①   | ②   | ③   | ④   | ⑤   | ⑥   | ⑦   | ⑧   |
|------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 标准品浓度(mmol/L)    | 0   | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 1   |
| 1 mmol/L 标准品(μL) | 0   | 40  | 60  | 80  | 120 | 140 | 160 | 200 |
| 双蒸水(μL)          | 200 | 160 | 140 | 120 | 80  | 60  | 40  | 0   |

样本准备

① 样本处理

组织样本匀浆：组织样本使用生理盐水（0.9% NaCl）匀浆处理，离心后，取上清待测。留取部分上清进行蛋白浓度测定。

血清（浆）样本：直接检测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.067-39.30 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

| 样本        | 稀释倍数 | 样本        | 稀释倍数 |
|-----------|------|-----------|------|
| 大鼠血浆      | 不稀释  | 10 %大鼠肝组织 | 不稀释  |
| 大鼠血清      | 不稀释  | 10 %大鼠肾组织 | 不稀释  |
| 10 %小鼠肾组织 | 不稀释  | 10 %小鼠肝组织 | 不稀释  |

注：稀释液为生理盐水(0.9 %NaCl)。

操作步骤

- ① 标准孔：取 20 μL 不同浓度的标准品溶液，分别加入相应的酶标孔中。  
测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向①中加入 180 μL 工作液。
- ③ 振板 5 s，酶标仪 550 nm 波长下检测测定待测孔 OD 值 A<sub>1</sub>。
- ④ 37℃ 孵育 25 min 后检测测定孔 OD 值 A<sub>2</sub> 和标准孔的 OD 值。

操作表

|                                                                                                        | 标准孔 | 测定孔 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 不同浓度的标准品溶液(μL)                                                                                         | 20  | --  |
| 待测样本(μL)                                                                                               | --  | 20  |
| 工作液(μL)                                                                                                | 180 | 180 |
| 振板 5 s，酶标仪 550 nm 波长下检测测定待测孔 OD 值 A <sub>1</sub> 。37℃ 孵育 25 min 后检测测定孔 OD 值 A <sub>2</sub> 和标准孔的 OD 值。 |     |     |

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

① 血清（浆）中黄嘌呤氧化酶（XOD）活力计算公式：

定义：37℃ 条件下，每升血清或血浆每分钟催化底物产生 1 μmol 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{XOD 活力 (U/L)} = (\Delta A_{550} - b) \div a \div T \times f \times 1000$$

② 组织样本中黄嘌呤氧化酶（XOD）活力计算公式：

定义：37℃ 条件下，每克组织蛋白每分钟催化底物产生 1 μmol 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{XOD 活力 (U/gprot)} = (\Delta A_{550} - b) \div a \div T \times f \div C_{pr} \times 1000$$

**注解:**

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

$\Delta A_{550}$ : 样本的变化 OD 值 ( $\Delta A_{550} = A_2 - A_1$ )

T: 反应时间, 25 min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

$C_{pr}$ : 待测样本的蛋白浓度(gprot/L)

1000: 单位换算, 1 mmol/L=1000  $\mu$ mol/L

## 附录1 关键数据

### 1.技术参数

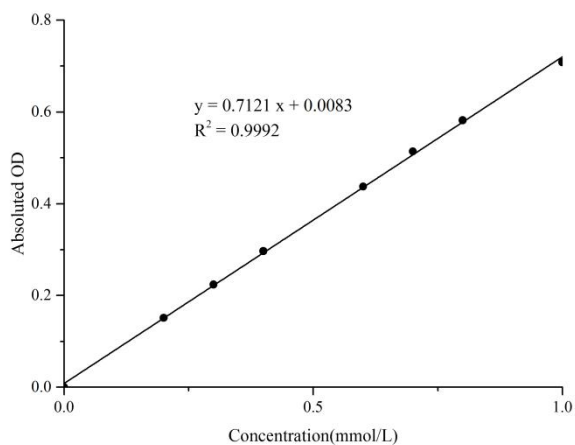
|       |                 |       |       |
|-------|-----------------|-------|-------|
| 检测范围  | 0.067-39.30 U/L | 平均批间差 | 9.9 % |
| 灵敏度   | 0.067 U/L       | 平均批内差 | 3 %   |
| 平均回收率 | 99 %            |       |       |

### 2.标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20  $\mu$ L, 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

| 标准品浓度<br>(mmol/L) | 0     | 0.2   | 0.3   | 0.4   | 0.6   | 0.7   | 0.8   | 1.0   |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| OD 值              | 0.042 | 0.194 | 0.268 | 0.327 | 0.484 | 0.561 | 0.631 | 0.757 |
|                   | 0.041 | 0.192 | 0.263 | 0.350 | 0.474 | 0.550 | 0.616 | 0.743 |
| 平均 OD 值           | 0.042 | 0.193 | 0.266 | 0.339 | 0.479 | 0.556 | 0.624 | 0.750 |
| 绝对 OD 值           | 0     | 0.152 | 0.224 | 0.297 | 0.438 | 0.514 | 0.582 | 0.709 |

② 绘制标曲(如下图):



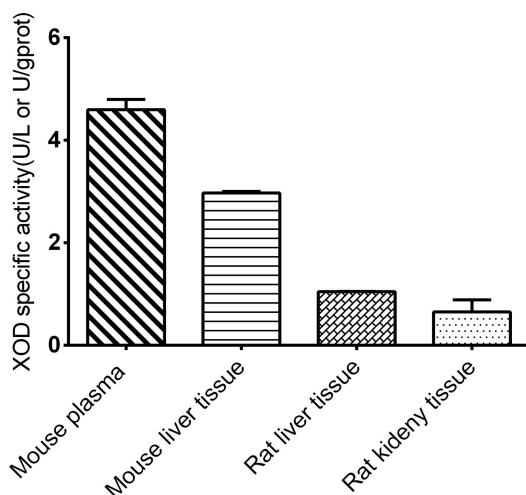
## 附录2 实例分析

例如小鼠肝组织(数据仅供参考):

取10 %小鼠肝组织匀浆20  $\mu\text{L}$ 加入到酶标板孔中, 按操作表操作, 结果如下: 标准曲线:  $y = 0.7121x + 0.0083$ , 样本 $A_1$ 值为0.144, 25 min时样本 $A_2$ 值为0.453,  $\Delta A_{550} = A_2 - A_1 = 0.453 - 0.144 = 0.309$ , 测定出小鼠肝组织匀浆的蛋白含量为5.68 gprot/L, 计算结果为:

$$\text{XOD活力(U/gprot)} = (0.309 - 0.0083) \div 0.7121 \div 25 \div 5.68 \times 1000 = 2.97 \text{ U/gprot}$$

按说明书操作, 测定小鼠血浆(加样量20  $\mu\text{L}$ )、小鼠肝组织(10 %组织匀浆蛋白含量5.68 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、大鼠肝组织(10 %组织匀浆蛋白含量5.01 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、大鼠肾组织(10 %组织匀浆蛋白含量4.19 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )中的XOD活力(如下图):





### 附录3 问题答疑

| 问题      | 可能原因           | 建议解决方案        |
|---------|----------------|---------------|
| 标准品不成线性 | 标准品浓度稀释错误      | 按照标准品稀释表重新标准品 |
|         | 计算错误           | 按照计算公式进行计算    |
|         | 使用过期的试剂        | 选择在保质期内的试剂    |
| 样本测不出值  | 样本保存时间过长或者保存不当 | 取新鲜样本，重新检测    |

#### 声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。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。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。





