

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：E-BC-D019

产品规格：96T

检测仪器：酶标仪(550-565 nm)

Elabscience®黄嘌呤氧化酶(XOD)抑制剂筛选测试盒

Xanthine Oxidase (XOD) Inhibitor Screening 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

网址：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黄嘌呤氧化酶(XOD)抑制剂的抑制效果。

检测原理

黄嘌呤氧化酶(Xanthine oxidase, XOD)是一种催化次黄嘌呤羟基化为黄嘌呤及黄嘌呤羟基化为尿酸的酶,由肾脏排泄。尿酸产生过多或排泄不足会导致高尿酸血症。因此开发 XOD 抑制剂可以用于治疗高尿酸和通风类疾病的研究。

本试剂盒检测原理:底物被 XOD 催化反应生成显色物质在 560 nm 处有最大吸收波长,在加入抑制剂后,显色的产生会被抑制,根据抑制的程度来确定抑制剂的作用效果。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	50 mL×1 瓶	-20℃ 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	1 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	0.2 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 3 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	0.2 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 3 个月
试剂五 (Reagent 5)	5 mmol/L 非布索坦 (5 mmol/L Febuxostant)	0.2 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 3 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	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(555-565 nm, 最佳检测波长 560 nm)

试剂准备

① 检测前，试剂三置于冰盒上解冻，其余试剂平衡至25℃；

② 试剂三工作液的配制：

按照试剂一：试剂三=39:1的体积比混匀，按需配制，配好的工作液2-8℃保存，2天内使用有效。

③ 反应工作液的配制：

根据用量，按照试剂一：试剂二：试剂四=95:5:1的体积比混匀，现配现用，按需配制，配好的工作液置于冰上避光待用，当天内使用有效。

④ 非布索坦的使用：

本试剂盒提供的非布索坦浓度为5 mmol/L，配制在DMSO中，非布索坦使用时，需用试剂一稀释到所需要的浓度。(此试剂为XOD抑制剂，作为阳性对照，测定抑制率可作为参考，IC₅₀约为0.2 μmol/L)。

样本准备

建议使用试剂一稀释样本，若样本水溶性较差，可使用DMSO配制成高浓度溶液后再使用试剂一稀释，反应体系中DMSO含量应小于5%。

实验关键点

① 各试剂准备过程注意避光，试剂三置于冰盒上待用。

② 阳性对照孔测定的为XOD特异性抑制剂的抑制率，仅可作为参考，实际测定过程中可选做孔，在本试剂盒中的IC₅₀约在0.2 μmol/L，实测数据会有差异。

操作步骤

- ① 空白孔：取 70 μL 试剂一加入相应的酶标孔中。
总酶活孔：取 50 μL 试剂三工作液加入相应的酶标孔中。
阳性对照孔：取 50 μL 试剂三工作液加入相应的酶标孔中。
测定孔：取 50 μL 试剂三工作液加入相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①中总酶活孔加入 20 μL 试剂一，阳性对照孔加入 20 μL 非布索坦，测定孔加入 20 μL 样本。
- ③ 振板 3s，25 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 5 min。
- ④ 向步骤④中各孔加入 100 μL 反应工作液。
- ⑤ 振板 3s，25 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 2 min，酶标仪 560 nm 波长检测各孔 OD 值。

操作表

	空白孔	总酶活孔	阳性对照孔	测定孔
试剂三工作液(μL)	--	50	50	50
试剂一(μL)	70	20	--	--
非布索坦(μL)	--	--	20	--
样本(μL)	--	--	--	20
振板 3s，25 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 5 min。				
反应工作液(μL)	100	100	100	100
振板 3s，25 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 2 min，酶标仪 560 nm 波长下检测各孔 OD 值。				

结果计算

抑制率计算公式:

$$\text{抑制率}(\%) = (A_{\text{总}} - A_{\text{测}}) \div (A_{\text{总}} - A_{\text{空}}) \times 100\%$$

注解:

A_总: 总酶活孔 OD 值

A_测: 测定孔 OD 值

A_空: 空白孔 OD 值

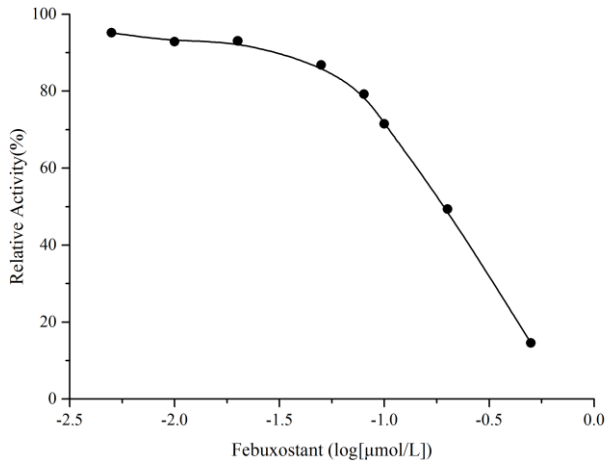
附录 关键数据

1. 技术参数:

批间差	0.9-5.5%	批内差	1.2-3.0%
-----	----------	-----	----------

2. 抑制率曲线:

黄嘌呤氧化酶(XOD)抑制剂筛选测试盒检测 XOD 抑制剂非布索坦的效果图:



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同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。

