

(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-K805-M

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: E-BC-K318-M)。

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物溶液 (Substrate Solution)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 (Enzymatic Reagent)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 1 (Chromogenic Agent 1)	0.8 mL×1 支	1.6 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	显色剂 2 (Chromogenic Agent 2)	0.8 mL×1 支	1.6 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	1 mmol/L 标准品溶液 (1 mmol/L Standard Solution)	1.6 mL×1 支	3.2 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 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(540-560 nm，最佳检测波长 550 nm)、37°C 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( $\mu$ L)	0	40	60	80	120	140	160	200
双蒸水( $\mu$ L)	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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向①中加入 180  $\mu\text{L}$  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  $A_1$ 。
- ④ 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 25 min 后检测测定孔 OD 值  $A_2$  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( $\mu\text{L}$ )	20	--
待测样本( $\mu\text{L}$ )	--	20
工作液( $\mu\text{L}$ )	180	180
振板 5 s, 酶标仪 550 nm 波长下检测测定待测孔 OD 值 $A_1$ 。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 25 min 后检测测定孔 OD 值 $A_2$ 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  $^{\circ}\text{C}$  条件下, 每升血清或血浆每分钟催化底物产生 1  $\mu\text{mol}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$  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  $^{\circ}\text{C}$  条件下, 每克组织蛋白每分钟催化底物产生 1  $\mu\text{mol}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$  所需要的酶量为一个活力单位。

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

**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

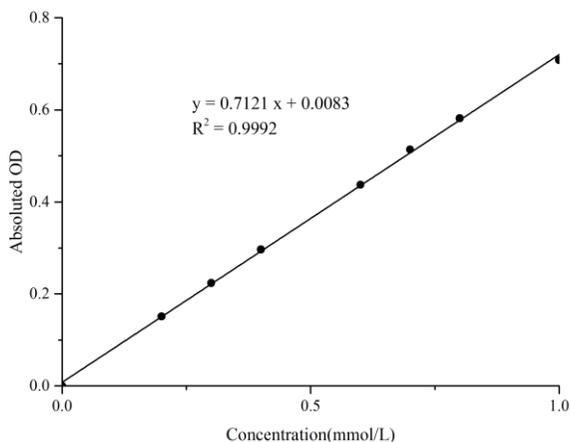
检测范围	0.067-39.30 U/L	平均批间差	9.9 %
灵敏度	0.067 U/L	平均批内差	3 %
平均回收率	99 %		

### 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 (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):



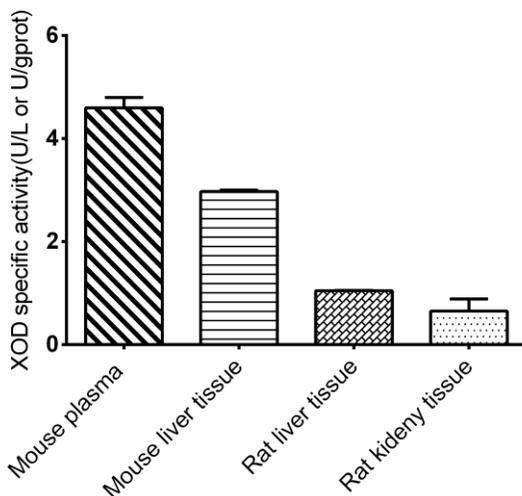
## 附录2 实例分析

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。





