

黄嘌呤氧化酶（XOD）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHC9-M48	黄嘌呤氧化酶(XOD)试剂盒	48T	微量法
AMHC9-M96		96T	

一、测定意义：

黄嘌呤氧化酶（XOD）是一种重要的酶类，参与嘌呤代谢的过程。

XOD 主要分布于哺乳动物的心、肺、肝脏等组织中，当肝脏功能受损时，XOD 大量释放到血清中，对肝脏的诊断具有特异性的意义。

二、测定原理：

XOD 催化次黄嘌呤产生黄嘌呤和超氧阴离子，超氧阴离子与盐酸羟胺反应生成 $\text{NO}^{\cdot-}$ ， $\text{NO}^{\cdot-}$ 在对氨基苯磺酰胺和蔡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。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 3mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 3mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂三	液体 3mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂四	液体 4mL×1 瓶	液体 7mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂五	液体 4mL×1 瓶	液体 7mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品	液体 1mL×1 支	液体 1mL×1 支	2~8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量 (g) : 提取液 (mL) 为 1:10 的比例 (建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液) 进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4℃ 离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌/细胞：按照细胞数量 (10^4 个) : 试剂一体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液)，冰浴

超声波破碎细胞(功率 200W, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 5min)；

然后 10000g, 4℃ 离心 10min, 取上清置于冰上待测。

3、血清 (浆) 等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 530nm，蒸馏水调零。

2、将 $10\mu\text{mol}/\text{mL}$ 标准液用蒸馏水稀释为 1、0.5、0.25、0.125、 $0.0625\mu\text{mol}/\text{mL}$ 的标准溶液备用。

3、操作表 (将试剂依次加入 96 孔板中)

试剂名称	测定管	标准管	空白管
标准溶液 (μL)	-	10	-
样本 (μL)	10	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	10
试剂一 (μL)	40	40	40
试剂二 (μL)	40	40	40
试剂三 (μL)	40	40	40
混匀，37℃ 培养 20min			
试剂四 (μL)	60	60	60
试剂五 (μL)	60	60	60
混匀，37℃ 水浴反应 20min，于波长 530nm 读取吸光度，分别记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ ，则 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。			

五、黄嘌呤氧化酶（XOD）活性计算：

1、标准曲线的绘制：根据标准管的浓度和吸光度 ΔA 标准建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算样本浓度 ($y, \mu\text{mol}/\text{mL}$)。

2、血清 (浆) XOD 活力的计算：

酶活定义：每毫升样本每分钟催化产生 $1\text{nmol } \text{NO}^{\cdot-}$ 定义为一个酶活力单位。

计算公式： $XOD (\text{U}/\text{mL}) = y \times 10^3 \div T = 50 \times y$

3. 细胞、细菌和组织中 LDH 活力的计算

(1) 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol NO²⁻ 定义为一个酶活单位。

计算公式: XOD(U/mg prot) = $y \times 10^3 \div Cpr \div T = 50 \times y \div Cpr$

(2) 按样本质量计算:

酶活定义: 每克组织每分钟催化产生 1nmol NO²⁻ 定义为一个酶活单位。

计算公式: XOD(U/g) = $y \times V_{\text{提取}} \times 10^3 \div W \div T = 50 \times y \div W$

(3) 按细菌或细胞数量计算:

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

计算公式: XOD (U/10⁴ cell) = $y \times V_{\text{提取}} \times 10^3 \div 500 \div T = 0.1 \times y$

10³: 单位换算系数, 1μmol/mL=10³nmol/mL; T: 反应时间, 20min;

W: 样本质量, g; V_{提取}: 提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; 500: 细胞或细菌总数, 500 万。

六、注意事项:

△A 样本在 0.005-1 之间数据有效, 数值过大或过小, 可以增加样本量或稀释样本, 注意同步修改公式。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日