

Xanthine-Hypoxanthine Content Kit

黄嘌呤-次黄嘌呤含量测定试剂盒说明书

货号: G0182F | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

一、产品简介:

黄嘌呤 (Xanthine) 与次黄嘌呤 (Hypoxanthine) 是嘌呤代谢通路中的关键中间产物, 广泛参与机体的能量代谢、核酸代谢及氧化还原平衡调节。检测生物样本中黄嘌呤与次黄嘌呤的含量, 对于相关疾病的机制研究、药物筛选及疗效评估具有重要意义。

本试剂盒基于酶偶联比色法, 通过黄嘌呤氧化酶 (XOD) 特异性催化黄嘌呤与次黄嘌呤的氧化反应, 生成过氧化氢 (H_2O_2)。在过氧化物酶 (POD) 作用下, H_2O_2 与显色剂发生偶联反应, 生成稳定的紫红色化合物。该产物在 510 nm 波长处具有最大吸收峰, 并通过计算得出样本中黄嘌呤与次黄嘌呤的含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二	液体 μ L×3 支	4°C 保存	临用前离心或用几下使试剂落入底部, 每支再分别加 0.6mL 蒸馏水充分溶解, 可 -20°C 分装冻存。
试剂三	液体 20mL×1 瓶	4°C 保存	
标准品	A: 粉剂×1 支 B: 液体 1mL×1 支	4°C 保存	

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、天平、离心机、研钵、可调式移液器、冰、蒸馏水。

四、黄嘌呤/次黄嘌呤含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备

① 组织样本:

称取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 1mL 提取液, 冰浴匀浆, 然后 12000rpm, 4°C, 离心 10min, 取上清作为粗体液, 置于冰上待测。

【注】: a、可以按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例提取。

b、提取液尽快测定, 请勿将样品进行长时间的低温保存, 以免影响测定结果。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 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); 12000rpm, 4°C, 离心 10min, 取上清液测定。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10^4): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清液检测。

2、上机检测

- ① 可见分光光度计预热 30min，调节波长至 510nm，蒸馏水调零。
- ② 所有试剂可于水浴锅（37°C）下孵育 15min 左右。
- ③ 在 EP 管中依次加入：

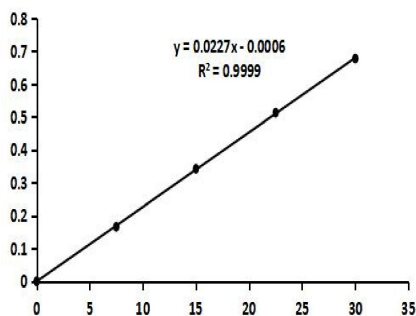
试剂名称 (μL)	样本管	对照管
样本	150	150
试剂一	250	250
试剂二	60	
蒸馏水		60
试剂三	300	300

混匀，37°C避光静置 30min，所有澄清液体转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 510nm 处测定各管吸光值 A。△A=A 测定-A 对照(每个样本做一个自身对照)。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

- 1、标准曲线方程： $y = 0.0227x - 0.0006$ ，x 是黄嘌呤质量 (μg)，y 是△A。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

- 2、按照样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{黄嘌呤/次黄嘌呤含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0006) \div 0.0227] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 293.7 \times (\Delta A + 0.0006) \div W \times D \end{aligned}$$

- 3、按细菌/细胞计算：

$$\begin{aligned} \text{黄嘌呤/次黄嘌呤含量}(\mu\text{g}/10^6\text{cell}) &= [(\Delta A + 0.0006) \div 0.0227] \div (V1 \div V \times 500) \times D \\ &= 293.7 \times (\Delta A + 0.0006) \div 5 \times D \end{aligned}$$

- 4、按照液体体积计算：

$$\text{黄嘌呤/次黄嘌呤含量}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A + 0.0006) \div 0.0227] \div V1 \times D = 293.7 \times (\Delta A + 0.0006) \times D$$

V---提取液的体积，1mL；

V1---加入反应体系的样品量,0.15mL；

W---样品鲜重，g；

5---细胞数量，百万；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。