

黄嘌呤/次黄嘌呤含量检测试剂盒（可见分光光度法）

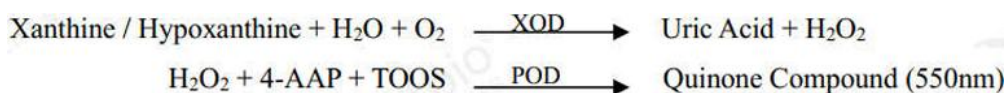
产品货号：BA3468

产品规格：50T/24S

产品说明：

黄嘌呤(Xanthine, EC200-718-6)和次黄嘌呤(Hypoxanthine, EC200-697-3)是嘌呤代谢的关键中间产物，广泛存在于生物体内。在细胞内，次黄嘌呤经黄嘌呤氧化酶(Xanthine Oxidase, XOD)催化氧化为黄嘌呤，后者进一步被氧化为尿酸，最终通过肾脏排出体外。这一代谢过程不仅是细胞能量代谢的核心环节，还与多种生理及病理机制密切相关。在医学领域，黄嘌呤和次黄嘌呤具有重要的应用价值，尤其在药物研发和疾病治疗方面。然而，若黄嘌呤氧化酶活性异常升高，会导致尿酸过量生成，可能引发高尿酸血症和痛风等疾病。因此，维持该代谢途径的平衡对机体健康至关重要。

基于其代谢特性，黄嘌呤和次黄嘌呤的含量可通过酶法检测：在XOD催化下，二者反应生成过氧化氢(H₂O₂)，后者在过氧化物酶(POD)、4-氨基安替比林及色源存在时，生成紫红色产物。该产物在550nm波长处具有最大吸收峰，通过测定单位时间内吸光度的变化，即可定量分析黄嘌呤和次黄嘌呤的含量。



注意:实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。

试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体30mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体5mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体20mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制：

- 测定管工作液：根据样本数量按照试剂一：试剂三=6.5mL:3mL(共 9.5mL，10S)的比例配制，临加样前现配现用，当天用完。
- 对照管工作液：根据样本数量按照试剂二：试剂三=6.5mL:3mL(共 9.5mL，10S)的比例配制，临加样前现配现用，当天用完。
- 标准品：10μmol/mL 黄嘌呤。
- 0.2μmol/mL 标准品的配制：取 100μL 的 10μmol/mL 黄嘌呤溶液，加入 900μL 蒸馏水，配制成 1μmol/mL 嘌呤溶液；取 200μL 的 1μmol/mL 黄嘌呤溶液，加入 800μL 蒸馏水，配制成 0.2μmol/mL 标准品，现用现配。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本提取：

- 组织：按照质量(g):提取液一体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g,加入 1mL 提取液一),冰浴匀浆后,4℃ 8000g



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

离心 10min, 取 0.8mL 上清液, 再缓慢加入 0.15mL 提取液二, 缓慢吹打混匀至无气泡产生, 4°C 8000g 离心 10min 后取上清置冰上待测。

2. 细胞/细菌: 按照细胞/细菌数量(10^6 个):提取液一体积(mL)为 5~10:1 的比例(建议 5 百万细胞/细菌加入 1mL 提取液一), 冰浴超声波破碎细胞/细菌(功率 200w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 4°C 8000g 离心 10min, 取 0.8mL 上清液, 再缓慢加入 0.15mL 提取液二, 缓慢吹打混匀至无气泡产生, 4°C 8000g 离心 10min 后取上清置冰上待测。
3. 血浆/血清等液体样本: 直接检测。如有浑浊, 可 8000g, 4°C 离心 10min, 取上清使用。

注: 提取液二需缓慢加入, 加入后会产生大量气泡, 建议使用 2mL EP 管进行操作。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 550nm, 蒸馏水调零。
2. 实验前将试剂一、试剂二和试剂三平衡至常温。
3. 操作表(在 1.5mL EP 管中反应):

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	250	250	-	-
标准品	-	-	250	-
蒸馏水	-	-	-	250
测定工作液	950	-	950	950
对照工作液	-	950	-	-

迅速混匀, 37°C 下反应 30min 后, 在 550nm 下测定吸光度值, 分别记为 A 测定、A 对照、A 标准、A 空白。计算: $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。标准管和空白管只需测定 1-2 次。

三、黄嘌呤/次黄嘌呤含量计算

1. 按照样本蛋白浓度计算

黄嘌呤/次黄嘌呤含量($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$)

$$= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) \times F$$

$$= 0.2375 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F$$

2. 按照样本质量计算

黄嘌呤/次黄嘌呤含量($\mu\text{mol}/\text{g 质量}$)

$$= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (W \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) \times F$$

$$= 0.2375 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F$$

3. 按细胞或细菌数量计算

黄嘌呤/次黄嘌呤含量($\mu\text{mol}/10^6\text{cell}$)

$$= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (N \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) \times F$$

$$= 0.2375 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times F$$

4. 按液体体积计算

黄嘌呤/次黄嘌呤含量($\mu\text{mol}/\text{mL 体积}$) = $\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times F = 0.2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$

C 标准: 标准品浓度, 0.2 $\mu\text{mol}/\text{mL}$; V 上清: 提取时上清液体积, 0.8mL; V 提取液一: 加入提取液一体积, 1mL; V 提取液二: 加入提取液二体积, 0.15mL; Cpr: 样本蛋白质浓度(mg/mL), 需要另外测定; W: 样本质量, g; N: 细胞或细菌总数, 以百万计; F: 样本稀释倍数。

注意事项:

1. 实验前用 1~2 个样本做预实验, 如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 超过 0.8, 建议将样本用蒸馏水适当稀释后再进行测定。如果 A 测定数值过小, 可增大样本量, 注意同步调整标准管和空白管。注意同步修改计算公式。
2. 本试剂盒的样本提取过程会破坏蛋白质, 如需按照蛋白浓度计算, 请重新提取样本。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

实验实例：

1. 取 0.1074g 大鼠肝脏，按照说明书提取方法进行样本提取，并将提取后的上清液用蒸馏水稀释 2 倍，按照测定步骤操作，用 1mL 玻璃比色皿测定， ΔA 标准=A 标准-A 空白=0.393-0.047=0.346， ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.367-0.059=0.308，按样本质量计算：

黄嘌呤/次黄嘌呤含量($\mu\text{mol/g}$ 质量)= $0.2375 \times \Delta A$ 测定 $\div$ ΔA 标准 $\div W \times F = 3.937 \mu\text{mol/g}$ 质量。

2. 取胎牛血清，按照测定步骤操作，用 1mL 玻璃比色皿测定， ΔA 标准=A 标准-A 空白=0.393-0.047=0.346， ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.298-0.084=0.214，按样本体积计算：

黄嘌呤/次黄嘌呤含量($\mu\text{mol/mL}$)= $0.2 \times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\times F = 0.124 \mu\text{mol/mL}$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com