#### (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-K074-S

产品规格: 50 assays(25 samples)/ 100 assays(50 samples)

检测仪器:紫外-可见光分光光度计(460 nm)

# Elabscience<sup>®</sup>髓过氧化物酶(MPO)比色法测试盒 Myeloperoxidase (MPO) 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

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血清、血浆、乳汁、动物组织、细胞样本中 MPO 活力。

#### 检测原理

髓过氧化物酶使过氧化氢还原成一种复合物,该复合物通过供氢体邻联 茴香胺供氢后生成黄色产物,在 460 nm 处通过比色测定产物的生成量,从而 计算出 MPO 的活力。

# 提供试剂和物品

编号	名称	规格 1(Size 1) (50 assays)	规格 2(Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一	缓冲液	·	U	2-8°C
(Reagent 1)	(Buffer Solution)	18 mL×1 瓶	36 mL×1 瓶	保存6个月
试剂二	粉剂 A	<b>扒刘√1 浙</b>	松刻~7 逝	2-8°C
(Reagent 2)	(Powder A)	₩ 粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	保存6个月
试剂三	粉剂 B	粉剂×1 支	か刻い ま	2-8°C
(Reagent 3)	(Powder B)	初州/1又	粉剂×2 支	保存6个月
试剂四	盐溶液	10 maI v 1 逝	10 mL×2 瓶	2-8°C
(Reagent 4)	(Saline Solution)	10 mL×1 瓶	IU IIIL^Z 和C	保存6个月
试剂五	澄清剂	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8°C
(Reagent 5)	(Clarificant)	12 IIIL^1 71A,	24 IIIL^1 7A	保存6个月
试剂六	粉剂 C	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃避光
(Reagent 6)	(Powder C)	初州×1 文	粉州×2 文	保存6个月
试剂七	底物	0.15 1.41 +	0.2 1.41 +	2-8°C
(Reagent 7)	(Substrate)	0.15 mL×1 支	0.3 mL×1 支	保存6个月
试剂八	酸试剂	2	6 mL×1 瓶	2-8°C
(Reagent 8)	(Acid Reagent)	3 mL×1 瓶		保存6个月

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:** 紫外-可见光分光光度计(460 nm)、涡旋混匀仪、恒温水浴锅、37℃ 恒温箱、台式离心机、磁力搅拌器、烧杯(100 mL)。

**耗材:** 枪头 (1000 μL, 200 μL, 10 μL)、EP 管 (5 mL、2 mL)、吸水纸、擦镜纸、磁力搅拌子。

试剂: 双蒸水或去离子水。

③ 试剂二应用液的配制:

# 试剂准备

- ① 检测前, 试剂盒中的试剂平衡至室温。
- ② 试剂一应用液的配制: 将试剂一: 双蒸水按1: 9 体积比稀释,混合即可,2-8℃保存1个月。
- 取1瓶试剂二加60 mL试剂一应用液搅拌溶解,若不溶,可37℃加热溶解,2-8℃保存2周,若试剂有固体析出,可37℃加热溶解后再使用。
- ④ 试剂三应用液的配制: 取一支试剂三倒入一瓶试剂四中溶解, 2-8℃保存 2 周。
- ⑤ 显色剂的配制: 取1支试剂六加100 mL 试剂一应用液,搅拌溶解后,加0.1 mL 试剂七, 混匀,2-8℃避光保存,显色剂若有试剂析出,可以使用。
- ⑥ 试剂五若凝固,需37℃温育至透明,方可使用。

## 样本准备

#### ① 样本处理

血清(浆)样本直接测定

5%组织匀浆:取 0.020-0.1 g 新鲜组织块,用 2-8°C 的 PBS(0.01 M, pH 7.4) 漂洗,滤纸吸干,称重,放入匀浆容器中,按照重量(g):体积(mL)=1:19 的比例加入 2-8°C 的试剂二应用液,进行匀浆,不离心,置于冰上待测。

细胞样本: 取  $2\times10^6$  个细胞加入  $400~\mu$ L 试剂二应用液进行匀浆,匀浆后取上清液待测。

#### 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,结合本试剂盒的检测范围(16.95-3349 U/L),选取最佳稀释倍数,进行正式批量实验。不同样本的稀释比例范围如下表(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	5%小鼠脑组织	不稀释
人血浆	不稀释	5%大鼠心匀浆	不稀释
大鼠血清	不稀释	人乳汁	不稀释

注:稀释液为试剂二应用液。

# 实验关键点

离心后的上清液必须澄清。

# 操作步骤

## 样本前处理

组织或细胞样本:取 0.9 mL 组织或细胞匀浆加 0.1 mL 试剂三应用液 (即 9:1 比例混合),充分混匀,37℃反应 15 min,取出待测。

血清(浆): 取 0.45 mL 血清(浆) 加 0.45 mL 试剂二应用液(1:1 比例混合),充分混匀,再加 0.1 mL 试剂三应用液(即 9:1 比例混合),充分混匀,37°C反应 15 min,取出待测。

#### 操作步骤

- ① 对照管:取 3 mL 双蒸水、0.2 mL 待测样本、0.2 mL 试剂五加入到 5 mL EP 管中;测定管:取 0.2 mL 待测样本、0.2 mL 试剂五, 3 mL 显色剂加入到 5 mL EP 管中;
- ② 涡旋混匀, 37℃准确反应 30 min。
- ③ 向②步骤中各管加入 0.05 mL 试剂八, 涡旋混匀, 60℃水浴 10 min。
- ④ 取出, 2325×g, 离心 10 min。
- ⑤ 取上清液,双蒸水调零,1 cm 光径石英比色皿,460 nm,测定各管 吸光度(若反应液出现凝固状态,吸光度上升,可将反应液于37℃ 恒温箱中放置,待凝固消失后再进行比色)。

# 操作表

	对照管	测定管	
双蒸水 (mL)	3		
待测样本 (mL)	0.2	0.2	
试剂五 (mL)	0.2	0.2	
显色剂 (mL)		3	
混匀, 37℃准确反应 30 min			
试剂八 (mL)	0.05	0.05	

混匀,60℃水浴10 min,取出,2325×g,离心10 min,取上清,双蒸水调零,1 cm 光径石英比色皿,460 nm,测定各管吸光度(若反应液出现凝固状态,吸光度上升,可将反应液于37℃恒温箱中放置,待凝固消失后再进行比色)。

# 结果计算

# 血清、血浆样本:

定义:每升血清(浆)在37℃反应体系中反应30 min,使反应体系中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>被分解1 μmol 为一个酶活单位。

#### 组织样本:

定义: 每克组织湿重在 37°C 反应体系中反应 30 min, 使反应体系中  $H_2O_2$  被分解 1 μmol 为一个酶活单位。

#### 细胞样本:

定义: 每  $10^6$  个细胞在  $37^{\circ}$ C 反应体系中反应 30 min, 使反应体系中  $H_2O_2$  被分解 1 umol 为一个酶活单位。

#### 计算公式:

$$\frac{\text{MPO 活力}}{(\text{U}/106)} = \frac{\Delta \text{A}}{11.3^* \times \text{b}} \times \text{V}_{\text{反}} \div \left( \frac{\text{N}}{\text{V}_3} \times \text{V}_2 \times 0.9 \right) \times \text{f} = \frac{1.696 \times \text{V}_3 \times \Delta \text{A}}{\text{N}} \times \text{f}$$

#### 注解:

ΔA: 测定管 OD-对照管 OD 值

\*: 常数

b: 比色光径, 1 cm

V 点: 反应体系总体积, 3.45 mL

V#: 血清(浆)样本体积

V<sub>1</sub>: 样本前处理总体积, 如: 0.45+0.45+0.1=1 mL 或 0.9+0.1=1 mL

V2: 待测样本体积, 如 0.2 mL

V3: 加入组织或细胞样本中试剂二应用液的体积 (mL)

m: 组织样本湿重 (g)

N: 细胞个数, N个 106

1000: 单位换算, 1 L=1000 mL

0.9: 样本前处理时,组织或细胞匀浆的取用体积与V1的比值;如0.9 mL/1

mL=0.9

f: 未进行前处理的样本的稀释倍数

# 附录1 关键数据

## 1. 技术参数

检测范围	16.95-3349 U/L	平均批间差	9.8 %
灵敏度	16.95 U/L	平均批内差	4.5 %
平均回收率	104 %		

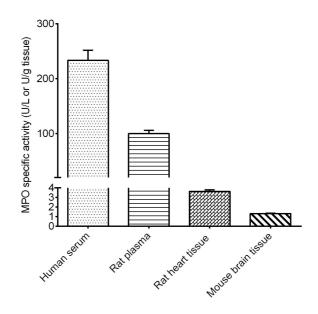
## 附录2 实例分析

#### 例如检测人血清(数据仅供参考):

取 0.45 mL 人血清, 按说明书操作, 结果如下: 对照管平均 OD 值为 0.007, 测定管平均 OD 值为 0.089, 计算结果为:

MPO 活力 = 
$$\frac{0.089\text{-}0.007}{0.45}$$
 ×1.526×1000×1= 278.07 U/L

按照说明书操作,测定人血清(取样量为 0.45 mL)、大鼠血浆(取样量为 0.45 mL)、大鼠心组织(5%组织匀浆,取样量为 0.9 mL)和小鼠脑组织(5%组织匀浆,取样量 0.9 mL)中的 MPO 活力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案	
复孔差异大	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作	
	12 h eskeet (Sabra 1 a)	升高样本检测液制备过程中	
17 h ml = 1 /h	样本稀释倍数太大	的组织浓度, 重新检测	
样本测不出值 	样本保存时间过长或者保	取新鲜样本, 重新检测	
	存不当		

#### 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。

# 附录4 客户发表文献

- Liang L , Peng W , Qin A ,et al.Intracellularly Synthesized Artificial Exosome Treats
   Acute Lung Injury[J].ACS Nano, 2024, 18(32):15.DOI:10.1021/acsnano.4c01900.
- Liu Z , Liu B , Feng Y ,et al.Dual-Targeted Self-Adjuvant Heterocyclic Lipidoid@Polyester Hybrid Nanovaccines for Boosting Cancer Immunotherapy[J].ACS Nano, 2024, 18(24):19.DOI:10.1021/acsnano.4c00392.
- Hu M, Du H, Xu Y, et al. Gentiopicroside Ameliorates Sepsis-Induced Acute Lung Injury via Inhibiting Inflammatory Response[J]. Canadian Respiratory Journal, 2024, 2024. DOI:10.1155/2024/1068326.
- 4. Yin C , Lyu Q , Dong Z ,et al.Well-defined alginate oligosaccharides ameliorate joint pain and inflammation in a mouse model of gouty arthritis[J].Theranostics, 2024, 14(8).DOI:10.7150/thno.95611.
- Chen H, Pan L, Zhang C, et al.Gastroretentive Raft Forming System for Enhancing Therapeutic Effect of Drug-Loaded Hollow Mesoporous Silica on Gastric Ulcers[J].Advanced Healthcare Materials, 2024, 13(22).DOI:10.1002/adhm.202400566.