

(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®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](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、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 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	18 mL×1 瓶	36 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	粉剂 A (Powder A)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	粉剂 B (Powder B)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8°C 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	盐溶液 (Saline Solution)	10 mL×1 瓶	10 mL×2 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	澄清剂 (Clarificant)	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	粉剂 C (Powder C)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8°C避光 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	底物 (Substrate)	0.15 mL×1 支	0.3 mL×1 支	2-8°C 保存 6 个月
试剂八 (Reagent 8)	酸试剂 (Acid Reagent)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8°C 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-可见分光光度计（460 nm）、涡旋混匀仪、恒温水浴锅、37°C 恒温箱、台式离心机、磁力搅拌器、烧杯（100 mL）。

**耗材：**枪头（1000  $\mu\text{L}$ ，200  $\mu\text{L}$ ，10  $\mu\text{L}$ ）、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。

## 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°C 保存 1 个月。

③ 试剂二应用液的配制：

取 1 瓶试剂二加 60 mL 试剂一应用液搅拌溶解，若不溶，可 37°C 加热溶解，2-8°C 保存 2 周，若试剂有固体析出，可 37°C 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°C 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°C 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°C 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 ℃ 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 ℃ 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  $2 \times 10^6$  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°C 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°C 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°C 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°C 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°C准确反应 30 min		
试剂八 (mL)	0.05	0.05
混匀, 60°C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°C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°C 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。

$$\text{MPO 活力} \begin{matrix} (\text{U/L}) \end{matrix} = \frac{\Delta A}{11.3 * b} \times V_{\text{反}} \div \left( \frac{V_{\text{样}}}{V_1} \times V_2 \right) \times 1000 \times f = \frac{1.526 \times 1000 \times \Delta A}{V_{\text{样}}} \times f$$

### 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 被分解 1 μmol 为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{MPO 活力} \begin{matrix} (\text{U/g 组织湿重}) \end{matrix} &= \frac{\Delta A}{11.3 * b} \times V_{\text{反}} \div \left( \frac{m}{V_3} \times V_2 \times 0.9 \right) \times f \\ &= \frac{1.696 \times V_3 \times \Delta A}{m} \times f \end{aligned}$$

### 细胞样本:

定义: 每 10<sup>6</sup> 个细胞在 37°C 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。

### 计算公式:

$$\text{MPO 活力} \begin{matrix} (\text{U}/10^6) \end{matrix} = \frac{\Delta A}{11.3 * b} \times V_{\text{反}} \div \left( \frac{N}{V_3} \times V_2 \times 0.9 \right) \times f = \frac{1.696 \times V_3 \times \Delta A}{N} \times f$$

**注解:**

$\Delta A$ : 测定管 OD-对照管 OD 值

\*: 常数

b: 比色光径, 1 cm

$V_{反}$ : 反应体系总体积, 3.45 mL

$V_{样}$ : 血清 (浆) 样本体积

$V_1$ : 样本前处理总体积, 如:  $0.45+0.45+0.1=1$  mL 或  $0.9+0.1=1$  mL

$V_2$ : 待测样本体积, 如 0.2 mL

$V_3$ : 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  $10^6$

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  $V_1$  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 %		

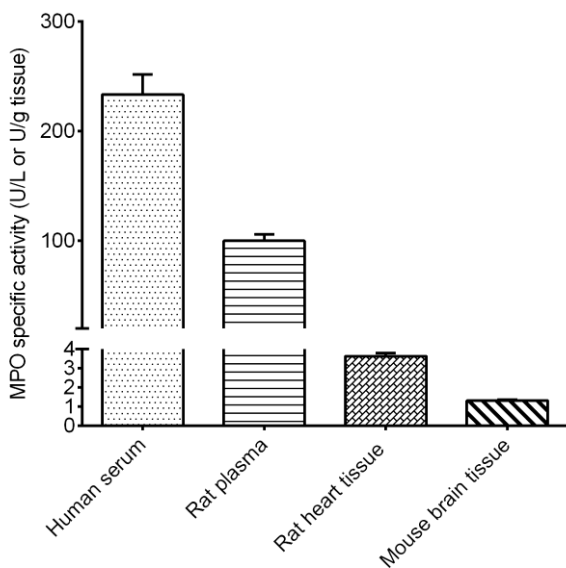
## 附录2 实例分析

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:

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

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
样本测不出值	样本稀释倍数太大	升高样本检测液制备过程中的组织浓度，重新检测
	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

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675