

(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-M

产品规格： 48T(24 samples)/96T(48 samples)

检测仪器： 酶标仪(450-470 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

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、动物组织样本中 MPO 活力。

检测原理

髓过氧化物酶将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 处通过比色法测定产物的生成量，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)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	2-8℃ 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℃ 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℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	盐溶液 (Saline Solution)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	澄清剂 (Clarificant)	1.2 mL×1 支	1.2 mL×2 支	2-8℃ 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℃ 避光 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	底物 (Substrate)	0.1 mL×1 支	0.1 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂八 (Reagent 8)	酸试剂 (Acid Reagent)	1 mL×1 支	1 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

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：酶标仪(450-470 nm，最佳检测波长 460 nm)，恒温水浴锅(60℃)

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，混匀后，2-8℃可保存 1 个月。

③ 试剂二应用液的配制：

取一瓶试剂二用 60 mL 试剂一应用液搅拌溶解，若不溶，可 37℃加热溶解，2-8℃可保存 2 周，若有固体析出，可 37℃加热溶解后再使用。

④ 试剂三应用液配制：

取一支试剂三用 3 mL 试剂四溶解，2-8℃可保存 2 周。

⑤ 显色剂的配制：

取一支试剂六用 12.5 mL 试剂一应用液溶解，完全溶解后，加入 12.5 μL 试剂七，混匀，2-8℃避光保存，若有固体析出，可以使用。

⑥ 若试剂五凝固，需 37℃温育透明，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。

② 样本的稀释

在正式检测前,需选择预期差异较大的2-3个样本,稀释成不同浓度进行预实验,结合检测范围: 19.42-893.31 U/L,不同样本稀释比例如下表(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	大鼠血清	不稀释
人血浆	不稀释	小鼠血浆	不稀释
人乳汁	不稀释	5%大鼠肾脏组织	不稀释
细胞上清	不稀释	5%大鼠脾脏组织	不稀释

注: 稀释液为试剂二应用液

实验关键点

① 实验操作步骤中离心后上清必须澄清。

② 若用 5%组织匀浆进行实验, OD 值很低, 可用 10%组织匀浆进行实验, 即按照组织重量(g): 体积(mL)=1: 9 的比例加入 2-8 ℃ 的试剂二应用液, 并增加匀浆时间, 使组织块尽可能磨碎。

③ 样本中不能添加 EDTA 等螯合剂。

操作步骤

样本前处理

组织样本:取 90 μL 组织匀浆加 10 μL 试剂三应用液(按 9: 1 的比例混合), 涡旋混匀 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 15 min 后待测(使用前需混匀)。

血清(浆): 取 45 μL 血清(浆)加 45 μL 试剂二应用液(1: 1 比例混匀), 涡旋混匀 5 s, 再加入 10 μL 试剂三应用液(按 9: 1 的比例混合), 混匀 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 15 min 后待测(使用前需要混匀)。

测定步骤

- ① 对照管: 取 350 μL 双蒸水、20 μL 待测样本、20 μL 试剂五加入到 1.5 mL EP 管中;
测定管: 取 20 μL 待测样本、20 μL 试剂五, 350 μL 显色剂加入到 1.5 mL EP 管中。
- ② 涡旋混匀 3 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 准确反应 30 min。
- ③ 向②中各管加入 5 μL 试剂八, 涡旋混匀 3 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min。
- ④ 取出后, 3000 $\times\text{g}$, 离心 10 min。
- ⑤ 取 300 μL 上清液于酶标板中, 酶标仪 460 nm 处, 测定各孔 OD 值(若反应液出现凝固状态, 可将反应液于 37 $^{\circ}\text{C}$ 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(μL)	350	
待测样本(μL)	20	20
试剂五(μL)	20	20
显色剂(μL)		350
涡旋混匀 3 s, 37 °C 准确反应 30 min		
试剂八(μL)	5	5
混匀 3 s, 60 °C 水浴 10 min。取出后 3000 \times g, 离心 10 min。 取上清 300 μL 于酶标板中, 酶标仪 460 nm 处, 测定各孔 OD 值(若反应液出现凝固状态, 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℃ 反应体系中反应 30 min, 使反应体系中过氧化氢被分解 1 μmol 为一个酶活单位。

$$\text{MPO 活力 (U/L)} = \frac{\Delta A}{11.3^* \times b} \times V_{\text{反}} \div \left(\frac{V_{\text{样}}}{V_1} \times V_2 \right) \times 1000 \times f = \frac{\Delta A \times 0.175 \times 1000}{V_{\text{样}}} \times f$$

组织样本:

定义: 每克湿重组织在 37℃ 反应体系中反应 30 min, 使反应体系中过氧化氢被分解 1 μmol 为一个酶活单位。

$$\text{MPO 活力 (U/g 组织湿重)} = \frac{\Delta A}{11.3^* \times b} \times V_{\text{反}} \div \left(\frac{m}{V_3} \times V_2 \times 0.9 \right) \times f = \frac{1.942 \times \Delta A \times V_3}{m} \times f$$

注解:

ΔA: 样本测定 OD 值-对照 OD 值

*: 常数

b: 光径, 1 cm

V_反: 反应体系总体积, 0.395 mL

V_样: 血清(浆)样本体积, 0.045 mL

V₁: 样本前处理总体积, 如: 0.045+0.045+0.01=0.1 mL 或 0.09+0.01=0.1 mL

V₂: 待测样本体积, 如 0.02 mL

V₃: 加入组织样本中试剂二应用液的体积(mL)

m: 组织样本湿重(g)

1000: 单位换算, 1 L=1000 mL

0.9: 样本前处理时, 组织的取用体积与 V₁ 的比值; 如 0.09 mL/0.1 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	19.42-893.31 U/L	平均批间差	7.3 %
灵敏度	19.42 U/L	平均批内差	5.4 %
平均回收率	104 %		

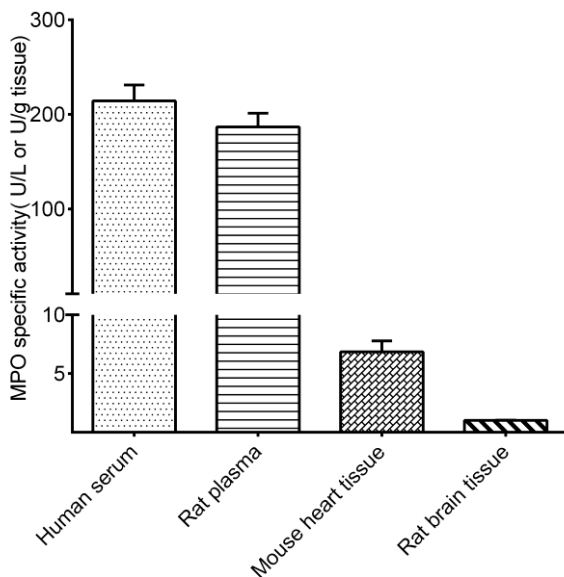
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取45 μL 人血清,按照说明书操作,结果如下:测定孔平均OD值为0.116,对照孔平均OD值为0.061,计算结果如下:

$$\text{MPO 活力 (U/L)} = \frac{0.116-0.061}{0.045} \times 0.175 \times 1000 = 213.89 \text{ U/L}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量45 μL)、大鼠血浆(加样量45 μL)、5%小鼠心脏组织(加样量90 μL)和5%大鼠脑组织(加样量90 μL)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	吸取到酶标板中时,引入了杂质	小心吸取上清,避免吸取到杂质
样本测不出值	样本稀释倍数太大,或者样本值低	减小稀释倍数、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 H₂O₂ 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

11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233