

(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°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)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8°C 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°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)	0.1 mL×1 支	0.1 mL×1 支	2-8°C 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°C 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按照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°C)

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°C 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°C 加热溶解，2-8°C 可保存 2 周，若有固体析出，可 37°C 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°C 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°C 避光保存，若有固体析出，可以使用。

⑥ 若试剂五凝固，需 37°C 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°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。

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°C 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°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°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°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°C 水浴 10 min。
- ④ 取出后，3000 $\times g$ ，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°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 × 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°C 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°C 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 %		

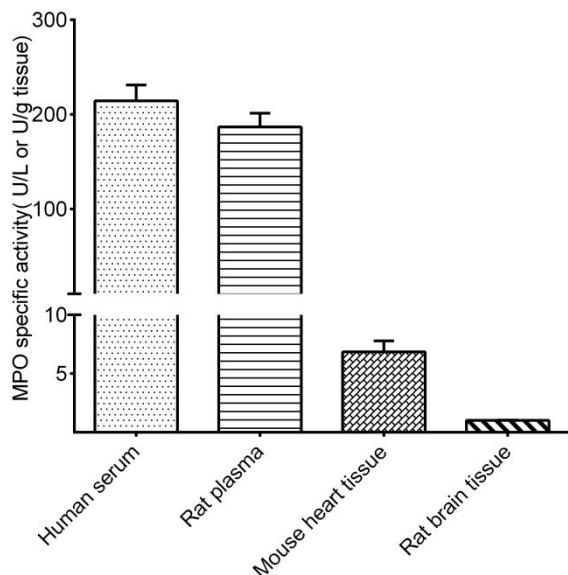
附录2 实例分析

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:

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

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. CXCL5 activates CXCR2 in nociceptive sensory neurons to drive joint pain and inflammation in experimental gouty arthritis[J].Nature communications, 15(1):3263.DOI:10.1038/s41467-024-47640-7.
2. 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.
3. 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.
4. Wang D , Wang K , Liu Q ,et al.A Novel Drug Candidate for Sepsis Targeting Heparanase by Inhibiting Cytokine Storm (Adv. Sci. 29/2024)[J].Advanced Science, 2024, 11(29).DOI:10.1002/advs.202470175.
5. Zhan Y , Lou H , Shou R ,et al.Maternal exposure to E 551 during pregnancy leads to genome-wide DNA methylation changes and metabolic disorders in the livers of pregnant mice and their fetuses[J].Journal of Hazardous Materials, 2024(Mar.5):465.DOI:10.1016/j.jhazmat.2023.133233.
6. Hu C , Yuan X , Zhao R ,et al.Scale-Up Preparation of Manganese-Iron Prussian Blue Nanozymes as Potent Oral Nanomedicines for Acute Ulcerative Colitis[J].Advanced Healthcare Materials, 2024, 13(16).DOI:10.1002/adhm.202400083.

