

(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-F013

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 荧光酶标仪(激发光波长 535 nm, 发射光波长 587 nm)

Elabscience®髓过氧化物酶(MPO)过氧化活性荧光法 测试盒

Myeloperoxidase (MPO) Peroxidation Activity Fluorometric 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动物组织及血清(浆)样本中髓过氧化物酶的过氧化活性。

检测原理

过氧化氢在过氧化物酶的催化作用下，能将无荧光探针氧化为有荧光的物质，其荧光强度与样本中总过氧化物酶活性成正比。本试剂盒通过一种MPO酶抑制剂，特异性的抑制样本中MPO的过氧化活性，从而将样本中MPO的过氧化活性与其他过氧化物酶的活性区分开。

过氧化氢 + 底物 $\xrightarrow{\text{过氧化反应}}$ 荧光值 F₂ (Ex/Em=535 nm/587 nm)

过氧化氢 + 底物 + MPO 抑制剂 $\xrightarrow{\text{过氧化反应}}$ 荧光值 F₁

MPO 过氧化活性产生的荧光值 = 荧光值 F₂ - 荧光值 F₁

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	60 mL×1 瓶	-20℃ 保存 12 个月
试剂二 (Reagent 2)	探针 (Probe)	0.25 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 12 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	0.25 mL×1 支	-20℃ 保存 12 个月
试剂四 (Reagent 4)	抑制剂 (Inhibitor)	1.2 mL×1 支	-20℃ 保存 12 个月
试剂五 (Reagent 5)	25 μmol/L 试卤灵标准品 (25 μmol/L Resorufin Standard)	1.5 mL ×1 支	-20℃ 避光 保存 12 个月
	96 孔黑色酶标板	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：荧光酶标仪(激发光波长 535 nm, 发射光波长 587 nm)

试剂准备

- ① 检测前，所有试剂需平衡至室温。
- ② 试剂一于37°C恒温箱中预热20 min，待其完全澄清后方可使用。
- ③ 反应工作液的配制：

按试剂一：试剂二：试剂三体积比为36：2：2的比例混合均匀，按需现用现配，避光保存。

- ④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度($\mu\text{mol/L}$)	0	2	4	6	8	10	12	15
25 $\mu\text{mol/L}$ 标准品 (μL)	0	20	40	60	80	100	120	150
试剂一(μL)	250	230	210	190	170	150	130	100

样本准备

① 样本处理

血清（浆）样本：可直接测定。

组织样本：组织处理的匀浆介质为试剂一。

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，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.001-1.26 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
猪血清	5-10	HepG2 细胞上清	30-50
兔血清	3-5	10%小鼠肝匀浆	2-5
大鼠血清	2-5	10%小鼠脑匀浆	不稀释
小鼠血清	10-20	10%大鼠肺匀浆	不稀释

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

- ① 试剂一取用时应倒出部分，再取用，避免试剂污染。
- ② 工作液和不同浓度的标准品配制完成后，必须避光。
- ③ 孵育结束后，应立即向测定孔和标准孔中加入试剂四。

操作步骤

- ① 标准孔：取 50 μL 不同浓度的标准品，加入到相应的酶标板孔中。
测定孔：取 50 μL 待测样本加入相应的酶标板孔中。
对照孔：取 50 μL 待测样本加入相应的酶标板孔中。
- ② 向步骤①中的对照孔加入 10 μL 的试剂四。
- ③ 向步骤②中的各孔加入 40 μL 的反应工作液。
- ④ 酶标仪上震板 5 s，37°C 恒温箱中孵育 10 min。
- ⑤ 孵育结束后立即向测定孔和标准孔中加入 10 μL 的试剂四。
- ⑥ 荧光酶标仪上设置激发光波长 535 nm，发射光波长 587 nm，测定各孔荧光值，记对照孔荧光值为 F_1 ，测定孔荧光值为 F_2 ，则 $\Delta F = F_2 - F_1$ 。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度的标准品(μL)	50	--	--
待测样本(μL)	--	50	50
试剂四(μL)	--	--	10
反应工作液(μL)	40	40	40
酶标仪上震板 5 s，37°C 恒温箱中孵育 10 min。			
试剂四(μL)	10	10	--
荧光酶标仪上设置激发光波长 535 nm，发射光波长 587 nm，测定各孔荧光值，记对照孔荧光值为 F_1 ，测定孔荧光值为 F_2 ，则 $\Delta F = F_2 - F_1$ 。			

结果计算

试卤灵标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清(浆)MPO 过氧化活力的计算:

定义: 37°C条件下, 每升血清(浆)每分钟催化底物产生 1 μmol 的试卤灵所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{MPO 过氧化活力 (U/L)} = (\Delta F - b) \div a \div T \times f$$

组织中 MPO 过氧化活力的计算:

定义: 37°C条件下, 每升血清(浆)每分钟催化底物产生 1 μmol 的试卤灵所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{MPO 过氧化活力 (mU/g 组织湿重)} = (\Delta F - b) \div a \div T \times f \div \left(\frac{m}{v}\right) \times 1000^*$$

注解:

y: 标准品荧光值-空白荧光值 (标准品浓度为 0 的荧光值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔF : 样本的荧光变化值 ($\Delta F = F_2 - F_1$)

T: 反应时间, 10 min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

V: 提取液的体积 (L)

m: 组织样本湿重(g)

*: 1U = 1000 mU

附录1 关键数据

1. 技术参数

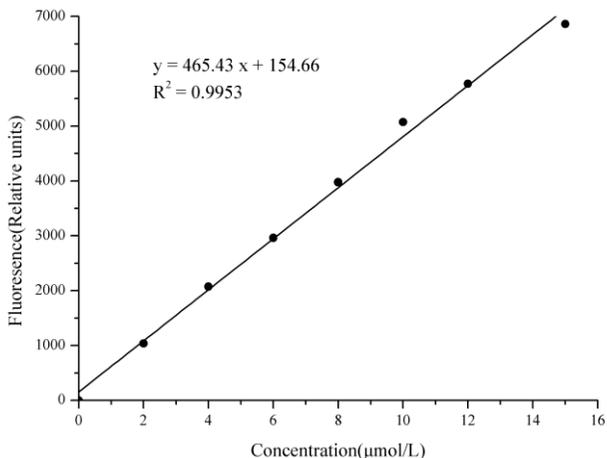
检测范围	0.001-1.26 U/L	平均批间差	5.4 %
灵敏度	0.001 U/L	平均批内差	1.0 %

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度标准品加样量50 μ L, 按照操作步骤进行实验, 荧光值如下表所示:

标准品浓度 (μ mol/L)	0	2	4	6	8	10	12	15
荧光值	28	1055	2096	3079	4118	4973	5680	6717
	28	1079	2110	2904	3893	5233	5923	7063
平均荧光值	28	1067	2103	2992	4006	5103	5802	6890
绝对荧光值	0	1039	2075	2964	3978	5075	5774	6862

②绘制标曲(如下图):



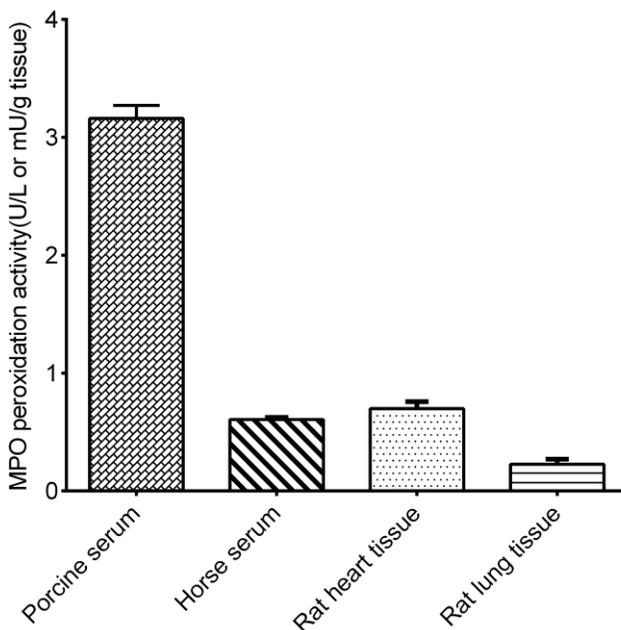
附录2 实例分析

例如检测兔血清(数据仅供参考):

取稀释2倍后的兔血清50 μL 加入到相应的酶标板孔中,按操作表检测,结果如下:试卤灵的标准曲线: $y = 466.97x + 74.669$,对照孔平均荧光值为612,记为 F_1 ,测定孔平均荧光值为4587,记为 F_2 ,则 $\Delta F = F_2 - F_1 = 3975$,计算结果为:

$$\text{MPO 过氧化活力 (U/L)} = (3975 - 74.669) \div 466.97 \div 10 \times 2 = 1.67 \text{ U/L}$$

按照说明书,测定猪血清(稀释6倍,加样量50 μL)、马血清(稀释2倍,加样量50 μL)、10%大鼠心组织(加样量50 μL)和10%大鼠肺组织匀浆(加样量50 μL)中的MPO过氧化物活性(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测值不稳定，复孔差异大	加样时间过长	尽可能的缩短加样时间
样本测不出值	未严格按照操作步骤加试剂四	严格按照操作步骤进行
	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
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose

- and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113
22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
 23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
 24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
 25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add - on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double - blind placebo - controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
 26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
 27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
 28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- β Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
 29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells - extracted microvesicles attenuate LPS - induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
 30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508