（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 F_2 (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 F_1

MPO 过氧化活性产生的荧光值 ＝ 荧光值 F_2 – 荧光值 F_1

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°C 保存 12 个月
试剂二 (Reagent 2)	探针 (Probe)	0.25 mL×1 支	-20°C 避光 保存 12 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	0.25 mL×1 支	-20°C 保存 12 个月
试剂四 (Reagent 4)	抑制剂 (Inhibitor)	1.2 mL×1 支	-20°C 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°C 避光 保存 12 个月
	96 孔黑色酶标板	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℃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(μmol/L)	**0**	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**	**12**	**15**
25 μmol/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℃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 $\triangle F = F_2 - F_1$。

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℃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 $\triangle F = F_2 - F_1$。			

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℃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℃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

△F：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

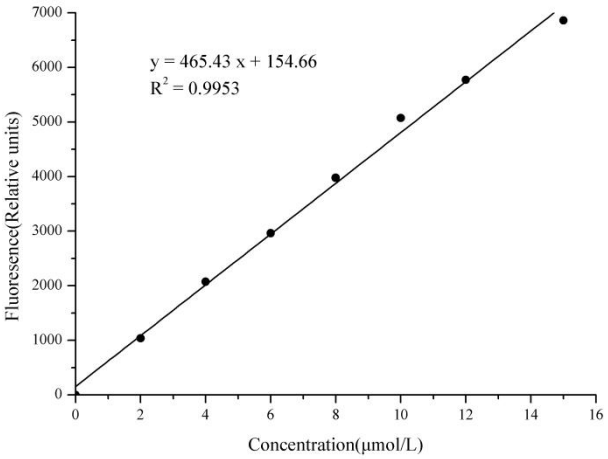
检测范围	0.001-1.26 U/L	**平均批间差**	5.4 %
灵敏度	0.001 U/L	**平均批内差**	1.0 %

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度标准品加样量50 μL，按照操作步骤进行实验，荧光值如下表所示：

标准品浓度 (μmol/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)：



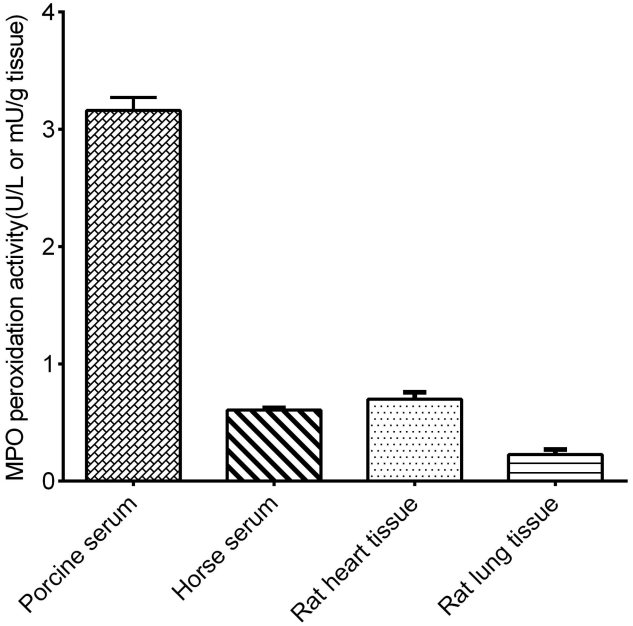
附录2 实例分析

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$\triangle F = F_2 - F_1 = 3975$，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. Wang J, Kang G, Lu H, et al. Novel bispecific nanobody mitigates experimental intestinal inflammation in mice by targeting TNF-α and IL-23p19 bioactivities[J]. Clinical and translational medicine, 2024, 14(3): e1636.

2. Yang Y, Chen Q, Liu Z, et al. Novel reduced heteropolyacid nanoparticles for effective treatment of drug-induced liver injury by manipulating reactive oxygen and nitrogen species and inflammatory signals[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2025, 678: 174-187.

3. Chen Y, Liu H, Tian Y, et al. Fexofenadine protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by targeting cytosolic phospholipase A2[J]. International Immunopharmacology, 2023, 116: 109637.

4. Yu R, Zhou Q, Liu T, et al. Kaempferol relieves the DSS-induced chronic colitis in C57BL/6J mice, alleviates intestinal angiogenesis, and regulates colonic microflora structure[J]. Journal of Functional Foods, 2023, 107: 105646.

5. Chen Y, Liu H, Zhang Q, et al. Cinacalcet targets the neurokinin-1 receptor and inhibits PKCδ/ERK/P65 signaling to alleviate dextran sulfate sodium-induced colitis[J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 735194.

6. Shaikh S A, Muthuraman A. Tocotrienol-Rich Fraction Ameliorates the Aluminium Chloride-Induced Neurovascular Dysfunction-Associated Vascular Dementia in Rats[J]. Pharmaceuticals, 2023, 16(6): 828.