



髓过氧化物酶 (MPO) 活性检测试剂盒
Myeloperoxidase (MPO) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



髓过氧化物酶 (MPO) 活性检测试剂盒

Myeloperoxidase (MPO) Activity Assay Kit

一、产品描述

髓过氧化物酶 (MPO) 是一种由活化的中性粒细胞、单核-巨噬细胞分泌的白细胞酶，主要存在于中性粒细胞和单核-巨噬细胞的嗜苯胺蓝颗粒中，作为系统炎症和氧化应激的标志物，在免疫和炎症过程中发挥重要作用，并参与抗菌、免疫调节和氧化应激等生理过程。

髓过氧化物酶可催化 H_2O_2 分解，同时将邻联茴香胺氧化生成有色物质，产物在 460 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征髓过氧化物酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 90 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C 保存	使用前每瓶加入 15 mL 试剂一充分溶解 (37°C 或超声促溶，配制后 4°C 可保存 2 周)
试剂三	液体 4 mL×1 瓶	4°C 保存	低温会出现沉淀析出属于正常现象 (使用前 37°C 加热至澄清透明状态)
试剂四	液体 3 mL×1 瓶	4°C 避光保存	易挥发组分，注意密封保存
试剂五	液体 100 μ L×1 支	4°C 避光保存	-
试剂六	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织：按照组织质量 (g)：试剂二体积 (mL) 为 1：(5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂二) 处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量 (10^4 个)：试剂二体积 (mL) 为 (500-1000)：1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂二) 处理样品，冰浴超声破碎 (功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次)，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：吸取 500 μL 液体样本，加入 500 μL 试剂二充分混匀，4 $^{\circ}\text{C}$ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 460 nm，蒸馏水调零。

②检测工作液的制备（现用现配）：根据使用量按试剂一：试剂四：试剂五=960:40:1 的体积比配制，充分混匀即为检测工作液。

③灭活酶液的制备：吸取 100-200 μL 粗酶液至离心管中，100 $^{\circ}\text{C}$ 处理 10 min（密封以防止水分散失），冷却至室温即为灭活酶液。

④在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)
粗酶液	60	-
灭活酶液	-	60
试剂三	60	60
检测工作液	900	900
充分混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 准确反应 30 min		
试剂六	15	15
充分混匀，60 $^{\circ}\text{C}$ 反应 10 min 冷却至室温		

注：①60 $^{\circ}\text{C}$ 反应过程中注意密封以防止水分散失；②每个样品均需设一个对照管；③环境温度较低时，反应液可能出现浑浊或凝固，若出现上述情况 37 $^{\circ}\text{C}$ 加热至反应液澄清后再进行吸光值测定。

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 460 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照，计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照。

3.髓过氧化物酶（MPO）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每小时生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活单位。

$$\text{MPO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.053 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每小时生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活单位。

$$\text{MPO (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.053 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每小时生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活单位。

$$\text{MPO (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.053 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活单位。

$$\text{MPO (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times (V_{\text{液}} + V_2)}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times V_{\text{液}} \times T} = 6.106 \times \Delta A$$

注释： V 反总：反应体系总体积，1.035 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.06 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 液：液体样本提取过程中加入液体样本的体积，0.5 mL；V₂：液体样本提取过程中加入试剂二的体积，0.5 mL； ϵ ：氧化型邻联茴香胺消光系数，11.3 mL/ $\mu\text{mol}/\text{cm}$ ；d：1 mL 玻璃比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量，以万计；2：液体样本稀释倍数；T：酶促反应时间，0.5 h。

四、注意事项

①若 A 测定大于 1.2 或 ΔA 大于 0.5，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间（37°C 反应时间）或增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

