

髓过氧化物酶(MPO)测定试剂盒

产品货号: BA2008

产品规格: 100管/48样

一、试剂组成与配制:

试剂一: 缓冲贮备液35mL×1瓶, 按需要量配成缓冲应用液, 4°C可保存6个月。缓冲应用液的配制: 贮备液: 双蒸水=1:9, 4°C可保存1个月。

试剂二: 粉剂×2支, 4°C可保存6个月。临用时每支加缓冲应用液60mL溶解, 可以37°C加热溶解, 4°C可保存2周。[注]: 若您所需测的是组织样本, 并且除髓过氧化物酶之外, 还需测其它项目时, 此时每支试剂二粉剂需配成浓缩一倍的溶液, 即每支试剂二粉剂加到缓冲应用液30mL中。

试剂三: 粉剂×3支, 溶剂6mL×3支, 4°C可保存6个月。用时1支粉剂倒入1支溶剂中溶解, 最好提前一天配制, 充分溶解后4°C可保存2周。

试剂四: 溶液24mL×1瓶, 天冷时会凝固, 用前放入37°C以上的水中摇晃使其溶解至透明后方可应用, 室温可保存6个月。

试剂五: 粉剂×2支, 4°C可保存6个月。

试剂六: 溶液0.5mL×1支, 4°C可保存6个月。

显色剂的配制: 临用时将试剂五粉剂1支加到100mL缓冲应用液中, 充分摇匀, 待粉剂完全溶解后再加入试剂六0.1mL, 充分混匀, 配好后的显色剂4°C避光保存(颜色变深红后弃用)。

试剂七: 溶液6mL×1瓶, 4°C可保存6个月。

二、组织样本的MPO测定:

(一)、**样本前处理:** 准确称取组织重量, 以配好的试剂二溶液为匀浆介质, 按重量体积比为1:19加匀浆介质制备成5%的组织匀浆(也可酌情制备成10%的匀浆), 不需要进行离心。(组织匀浆尽量均匀, 不要有大块组织存在) [注]: 若您除做髓过氧化物酶之外, 还需测其它指标时, 则组织匀浆制备要按下面方法:

①、试剂二配制时要浓缩一倍, 即每支试剂二粉剂加到30mL缓冲应用液中;

②、先用生理盐水为匀浆介质按实验方法学制成浓缩一倍的匀浆, 即10%匀浆(脑组织制备成20%匀浆), 不要离心, 取出部分浓缩一倍匀浆按1:1比例加入 浓缩一倍的试剂二溶液, 混匀后再进行测定。

(二)、操作表:

	对照管	测定管
5%组织匀浆 (mL)	0.18	0.18
试剂三 (mL)	0.02	0.02
充分混匀, 37°C水浴15分钟		
试剂四 (mL)	0.2	0.2
双蒸水 (mL)	3	
显色剂 (mL)		3
混匀, 37°C水浴30分钟		
试剂七 (mL)	0.05	0.05
混匀, 60°C水浴10分钟, 取出后立即在460nm处, 1cm光径, 双蒸水调零, 分光光度计测各管吸光度值。		



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

[注 1]: 天冷时, 反应液会出现凝固状态, 吸光度上升, 您可以用 25~37°C 的水浴箱或取一个盛 25~37°C 热水的烧杯放在比色机旁边, 将各待测管依次放入 水浴箱或烧杯中 1~2 分钟, 待凝固消失后即可进行比色。

[注 2]: 混匀时, 最好用旋涡混匀器, 使液体上下充分混匀 (一定要使最下面液体也能旋转到上面, 建议不要用尖底的管子做, 尤其不可用 1.5mL 的 EP 管, 因为这样非常难混匀)

(三)、计算:

1、单位定义: 每克组织湿片在 37°C 的反应体系中 H_2O_2 被分解 1mol 为 1 个酶活力单位。

2、计算公式:

$$MPO / (U/g \text{ 湿重}) = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} / 11.3 \times W$$

11.3: 为斜率的倒数; W: 为样本取样量(g), 且 $W = \text{匀浆液浓度}(5\% \text{ 或 } 10\%) \times \text{取样体积}(0.18\text{mL})$ 。

三、血清(浆)样本的 MPO 测定:

(一) 样本前处理: 取血清(浆)与试剂二按 1:1 比例稀释, 充分混匀。

(二) 操作表:

	试剂空白 (可以不做)	对照管	测定管
血清(浆) (mL)		0.18	0.18
试剂三 (mL)		0.02	0.02
充分混匀, 37°C 水浴 15 分钟			
试剂四 (mL)	0.2	0.2	0.2
双蒸水 (mL)	0.2	3	
显色剂 (mL)	3		3
混匀, 37°C 水浴 30 分钟			
试剂七 (mL)	0.05	0.05	0.05
混匀, 60°C 水浴 10 分钟, 取出后立即在 460nm 处, 1cm 光径, 双蒸水调零, 分光光度计测各管吸光度值。			

[注 1]: 天冷时, 反应液会出现凝固状态, 吸光度上升, 您可以用 25~37°C 的水浴箱或取一个盛 25~37°C 热水的烧杯放在比色机旁边, 将各待测管依次放入水浴箱或烧杯中 1~2 分钟, 待凝固消失后即可进行比色。

[注 2]: 混匀时, 最好用旋涡混匀器, 使液体上下充分混匀 (一定要使最下面液体也能旋转到上面, 建议不要用尖底的管子做, 尤其不可用 1.5mL 的 EP 管, 因为这样非常难混匀)

(三)、计算:

1、单位定义: 每升血清(浆)在 37°C 的反应体系中 H_2O_2 被分解 1mol 为 1 个酶活力单位。

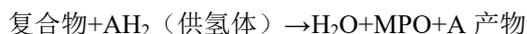
2、计算公式:

$$MPO \text{ 活力} / (U/L) = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} / 11.3 \times V_{\text{样}}$$

$V_{\text{样}}$: 取样中所含血清的量(升), $V_{\text{样}} = \text{前处理后血清浓度 } 0.5 \text{ (mL/mL)} \times \text{加样量 } (0.18 \times 10^{-3} \text{L})$

四、测定原理:

中性白细胞中存在有髓过氧化物酶, 每个细胞所含的酶的量是一定的, 约占细胞干重的 5%, 该酶具有使过氧化氢还原的能力, 利用这一特点可以分析酶的活力, 并定量测定中性白细胞的数目。其原理如下:



通过供氢体邻连茴香胺供氢后生成黄色化合物, 在 460nm 处通过比色测定 A 产物的生成量, 从而推算出 MPO 的活力及 H_2O_2 减少的量和白细胞的数目。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com