

髓过氧化物酶（MPO）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

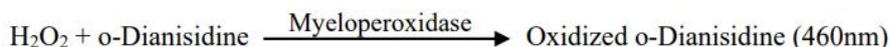
产品货号：BA2200

产品规格：50T/24S

产品简介：

髓过氧化物酶（myeloperoxidase, 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。当白细胞被激活后，MPO释放到吞噬泡和血浆，在特定条件下诱导氧化应激和组织损伤，是系统炎症和氧化应激的标志物。

MPO催化H₂O₂分解，同时将邻联茴香胺氧化生成有色物质，在460nm处有特征吸收峰，颜色深浅与MPO活性成线性关系。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂三	液体4mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体1.5mL×1支	2-8℃
试剂五	液体0.1mL×1支	2-8℃
试剂六	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前取一瓶试剂二加入15mL试剂一，可37℃加热促进溶解，2-8℃可保存2周；
2. 试剂三：低温下试剂会出现析出凝固现象，临用前需37℃加热至澄清透明状态；
3. 工作液：临用前根据样本量按照试剂一：试剂四：试剂五=5.28mL：220μL：5.5μL（5.5mL，6S）的比例配制，现用现配。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、分析天平、水浴锅/恒温培养箱、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织样本：按质量（g）：试剂二体积（mL）=1：5~10 比例加入试剂二（建议称取 0.1g 样本，加入 1.0mL 试剂二），冰浴匀浆后，于 4℃，12000g，离心 10min，弃沉淀，取上清液置于冰上待测。
2. 细胞样本：按细胞数量（10⁶）：试剂二体积（mL）=5~10：1 的比例加入试剂二（建议 5×10⁶ 个细胞加入 1.0mL 试剂二），冰浴超声破碎细胞（功率 200W，超声 3s，间隔 7s，总时间 3min），然后于 4℃，12000g，离心 10min，弃沉淀，取上清液置于冰上待测。
3. 液体样本：按液体体积（mL）：试剂二体积（mL）=1：1 的比例加入试剂二（相当于稀释 2 倍），混匀，于



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

4°C, 12000g, 离心 10min, 弃沉淀, 取上清液置于冰上待测。(若测定数值较小, 可以调整比例进行前处理, 例如 2: 1 或 3:1)

二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 460nm, 蒸馏水调零。
2. 在 2mL EP 管按下表顺序加样:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	60	60
试剂三	60	60
工作液	900	-
蒸馏水	-	900
混匀, 37°C反应 30min		
试剂六	15	15

混匀, 60°C反应 10min, 取 1mL 反应液于 1mL 玻璃比色皿中测定 460nm 处各管吸光值, 分别记为 A 测定和 A 对照, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设置一个对照管。

注: 温度较低时, 反应液可能出现浑浊或凝固, 此时需 37°C 加热至反应液澄清透明方可进行测定。

三、MPO 活性计算

1. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义: 每 mg 组织蛋白在 37°C 反应体系中每小时催化产生 1μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活单位。

$$\text{MPO 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 3.053 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算

单位的定义: 每 g 组织在 37°C 反应体系中每小时催化产生 1μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活单位。

$$\text{MPO 活性 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 3.053 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞数目计算

单位的定义: 每 10⁶ 个细胞在 37°C 反应体系中每小时催化产生 1μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活单位。

$$\text{MPO 活性 (U/10}^6 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应总}} \div (N \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 3.053 \times \Delta A \div N$$

4. 按液体体积计算

单位的定义: 每 mL 液体在 37°C 反应体系中每小时催化产生 1μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活单位。

$$\text{MPO 活性 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应总}} \div V_{\text{样}} \times F \div T = 6.106 \times \Delta A$$

ϵ : 氧化型邻联茴香胺消光系数, 11.3mL/μmol/cm; d : 光径, 1cm; $V_{\text{反应总}}$: 反应总体积, 1.035mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.06mL; $V_{\text{提取}}$: 组织/细胞样本处理时加入试剂二的体积, 1mL; F : 液体前处理稀释倍数, 2; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; N : 细胞数目, 以 10⁶ 计; T : 酶促反应时间, 30min=0.5h。

注意事项:

1. 建议每次实验前查看试剂二和试剂三是否澄清透明, 若不澄清透明, 需 37°C 加热至溶液澄清透明方可使用。
2. 如果 ΔA 小于 0.01 或测定管吸光值接近对照管, 可以增加样本量或者延长 37°C 酶促反应时间后再进行测定; 如果 ΔA 测定大于 0.5 或 A 测定大于 1.5, 建议将样本匀浆后的上清液用试剂二适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。



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