



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 100 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 30 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 3 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 2 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/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、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 200 μL 液体样本，加入 200 μL 试剂二充分混匀，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 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 50-100 μL 粗酶液至离心管中，100°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	20	-
灭活酶液	-	20
试剂三	20	20
检测工作液	300	300
充分混匀，37°C准确反应 30 min		
试剂六	5	5
充分混匀，60°C反应 10 min 冷却至室温		

注：①60°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°C加热至反应液澄清后再进行吸光值测定。

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 460 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

3.髓过氧化物酶（MPO）活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

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。

$$\text{MPO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反应总}}}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{6.106 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

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。

$$\text{MPO (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{6.106 \times \Delta A}{W}$$

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。

$$\text{MPO (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{6.106 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

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。

$$\text{MPO (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times (V_{\text{液}} + V_2)}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times V_{\text{液}} \times T} = 12.212 \times \Delta A$$

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中 96 孔板光径 ($d_1=0.5$) 改为微量玻璃比色皿光径 ($d_2=1.0$) 进行计算即可。

注释： $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.345 mL； $V_{\text{样}}$ ：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL； $V_{\text{样总}}$ ：粗酶液总体积，1 mL； $V_{\text{液}}$ ：液体样本提取过程中加入液体样本的体积，0.2 mL； V_2 ：液体样本提取过程中加入试剂二的体积，0.2 mL； ϵ ：氧化型邻联茴香胺消光系数，11.3 mL/ $\mu\text{mol}/\text{cm}$ ； d_1 ：96 孔板光径，0.5 cm； d_2 ：微量玻璃比色皿光径，1 cm； C_{pr} ：样本蛋白浓度，mg/mL； W ：样本质量，g；细菌或细胞数量，以万计； 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.

