

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：(试剂盒有效期6个月)

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

试剂二：粉剂×2支，4℃保存。临用时每支加缓冲应用液60mL溶解，可以37℃加热溶解，配好后4℃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℃保存。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℃可保存2周。

试剂四：溶液24mL×1瓶，天冷时会凝固，用前放入37℃以上的水中摇晃使其溶解至透明后方可应用，4℃或室温可保存6个月。

试剂五：粉剂×2支，4℃保存。

试剂六：溶液0.5mL×1支，4℃保存。

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℃避光保存（颜色变深红后弃用）。

试剂七：溶液6mL×1瓶，4℃保存。

二、组织样本的MPO测定：

(一) **血清（浆）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) **组织样本前处理：**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。

(三) 操作表：

	对照管	测定管
处理好的待测样本（mL）	0.18	0.18
试剂三（mL）	0.02	0.02
充分混匀，37℃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℃水浴30分钟		
试剂七（mL）	0.05	0.05
混匀，60℃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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.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℃的水浴箱或取一个盛 25~37℃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)

(四) 血清(浆) 计算:

1、单位定义: 每升血清(浆) 在 37℃的反应体系中 H_2O_2 被分解 $1 \mu\text{mol}$ 为 1 个酶活力单位。

2、计算公式:

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

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

3、计算举例:

取 0.3mL 的血清加 0.3mL 的试剂二充分混匀, 取 0.18mL 做检测, 测得测定管 OD 值 0.053, 对照管 OD 值 0.013, 则计算如下:

$$\text{MPO 活力 (U/L)} = \frac{0.053 - 0.013}{11.3 \times 0.5 \times 0.18} \times 1000 = 39.33 \text{U/L}$$

(五) 组织样本计算:

1、单位定义: 每 g 组织湿片在 37℃的反应体系中 H_2O_2 被分解 $1 \mu\text{mol}$ 为 1 个酶活力单位。

2、计算公式:

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

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

3、计算举例:

例 1: 取 5%的小鼠心肌匀浆 0.18mL 按上述步骤进行检测, 测得对照管吸光度为 0.030, 测定管吸光度为 0.164, 则计算如下:

$$\text{MPO 活力 (U/g 湿重)} = \frac{0.164 - 0.030}{11.3 \times 0.05 \times 0.18} = 1.317 \text{U/g 湿重}$$

例 2: 取 5%的大鼠肝匀浆 0.18mL 按上述步骤进行检测, 测得对照管吸光度为 0.028, 测定管吸光度为 0.183, 则计算如下:

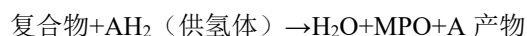
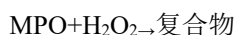
$$\text{MPO 活力 (U/g 湿重)} = \frac{0.183 - 0.028}{11.3 \times 0.05 \times 0.18} = 1.524 \text{U/g 湿重}$$

例 3: 取 10%的大鼠脑匀浆 0.18mL 按上述步骤进行检测, 测得对照管吸光度为 0.002, 测定管吸光度为 0.012, 则计算如下:

$$\text{MPO 活力 (U/g 湿重)} = \frac{0.012 - 0.002}{11.3 \times 0.1 \times 0.18} = 0.0492 \text{U/g 湿重}$$

三、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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com