

髓过氧化物酶（MPO）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHF5-M48	髓过氧化物酶（MPO）活性检测试剂盒	48T	微量法
AMHF5-M96		96T	

一、测定意义：

髓过氧化物酶（MPO）作为中性粒细胞活化的标志性酶，通过催化过氧化氢与氯离子生成具有强氧化性的次氯酸参与宿主抗感染免疫，其活性水平可灵敏反映中性粒细胞的浸润程度与活化状态，为炎症反应、组织损伤及感染性疾病的诊断、病情评估提供关键生物学指标；同时，MPO 介导的氧化应激与动脉粥样硬化斑块不稳定性、肿瘤微环境重塑等病理过程密切相关，其活性检测亦为相关疾病的机制研究及治疗靶点筛选提供重要实验依据。

二、测定原理：

在过氧化氢（ H_2O_2 ）参与下，MPO 催化底物 3,3',5,5'-四甲基联苯胺（TMB）氧化生成蓝色中间产物，当反应进行至设定时间时，加入 H_2SO_4 可通过降低体系 pH 值终止酶促反应，并促使蓝色产物转化为黄色稳定产物，该黄色产物在 450nm 波长处的吸光度与 MPO 活性呈正相关，通过测定此波长下的吸光度值，可定量反映样本中 MPO 的催化活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 20mL×1 瓶	液体 40mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 0.5mL×1 支	液体 1mL×1 支	2-8℃保存
试剂二配制： 用时每支溶液用试剂一 10x 稀释，即 0.1mL 试剂二加入 0.9mL 试剂一，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂三	液体 0.5mL×1 支	液体 1mL×1 支	2-8℃保存
试剂三配制： 用时每瓶试剂 6000x 稀释，即 0.01ml 试剂三加入蒸馏水 59.99mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂四	液体 2.5mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	2-8℃保存

工作液配制：按照试剂一：试剂二：试剂三=6：1：1 配制，混匀充分溶解，现用现配。

四、操作步骤：

样本前处理

- 1、组织：按照组织质量（g）:提取液体积（mL）为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 2、细菌、细胞：按照细胞数量 10^4 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm。
- 2、样本测定（在离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白管	测定管	对照管
样本（ μ L）	-	40	40
蒸馏水（ μ L）	40	-	-
试剂一（ μ L）	320	-	-
工作液（ μ L）	-	320	320
混匀，置于 60℃水浴锅/恒温培养箱反应 30min，于 450nm 波长处读取吸光度 $A_{1\text{测定}}$ ，分别记为 $A_{1\text{空白}}$ 、 $A_{1\text{测定}}$ 和 $A_{1\text{对照}}$ 。 计算 $\Delta A_{1\text{测定}} = A_{1\text{测定}} - A_{1\text{空白}}$ ， $\Delta A_{1\text{对照}} = A_{1\text{对照}} - A_{1\text{空白}}$ 。			
试剂四（ μ L）	40	40	40
混匀，置于室温反应 5min 后，于 450nm 波长处读取吸光度 $A_{2\text{测定}}$ ，分别记为 $A_{2\text{空白}}$ 、 $A_{2\text{测定}}$ 和 $A_{2\text{对照}}$ ，计算 $\Delta A_{2\text{测定}} = A_{2\text{测定}} - A_{2\text{空白}}$ ， $\Delta A_{2\text{对照}} = A_{2\text{对照}} - A_{2\text{空白}}$ 。 $\Delta A_{\text{测定}} = \Delta A_{2\text{测定}} - \Delta A_{1\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{对照}} = \Delta A_{2\text{对照}} - \Delta A_{1\text{对照}}$ 。（空白管只需测 1-2 次）。			

五、髓过氧化物酶（MPO）活性测定：

1、组织、细胞样本活性计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克蛋白每分钟催化生成 $1\mu\text{mol}$ 黄色产物为一个酶活力单位。

计算公式：
$$\text{MPO}(\mu\text{mol/g prot}) = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{对照}}) \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T) = 0.333 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{对照}}) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

单位定义：每克组织每分钟催化生成 $1\mu\text{mol}$ 黄色产物为一个酶活力单位。

计算公式：
$$\text{MPO}(\mu\text{mol/g}) = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{对照}}) \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times W \times T) = 0.333 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{对照}}) \div W$$

(3) 按细菌或细胞数量计算：

单位定义：每 1 百万个细菌或细胞每分钟催化生成 $1\mu\text{mol}$ 黄色产物为一个酶活力单位。

计算公式：
$$\text{MPO}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{对照}}) \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times 1000 \times T) = 0.0003 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{对照}})$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.2mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL；

$V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，30min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量，g；1000：细菌或细胞总数，1000 万。

六、 注意事项：

1、样本处理需保持低温（如 4°C ）并避免反复冻融，以防止 MPO 因温度波动失活，同时需去除样本中的红细胞等干扰成分，减少血红蛋白对显色反应的非特异性影响。

2、加入终止剂后终止反应时需快速且均匀混合，其浓度与用量需标准化，以保证反应彻底终止并稳定产物显色；终止后应在规定时间内完成吸光度检测（通常 30 分钟内），防止黄色产物因光氧化或久置发生降解。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日