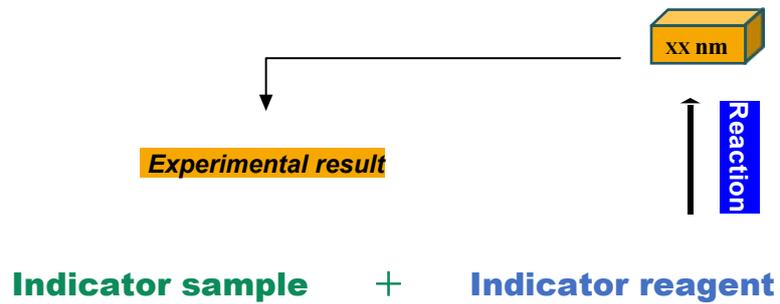


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 髓过氧化物酶(MPO)测定试剂盒说明书

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

试剂的组成和配制：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	缓冲贮备液 35mL ×1 瓶	4℃	按需要量配成缓冲应用液，缓冲应用液的配制：贮备液：双蒸水=1:9，4℃可保存 1 个月。
试剂二	粉剂×2 支	4℃	临用时每支加缓冲应用液 60mL 溶解，可以 37℃加热溶解，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	4℃	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	室温	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，室温可保存 6 个月。
试剂五	粉剂×2 支	4℃	
试剂六	溶液 0.5mL×1 支	4℃	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℃	

### 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。		

[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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 被分解 1 $\mu$ mol 为 1 个酶活力单位。

2、计算公式：
$$\text{MPO活力} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{(U/g\text{湿重}) \quad 11.3 \times W}$$

11.3：为斜率的倒数；

W：为样本取样量(g)，且 W=匀浆液浓度(5%或 10%)×取 样体积(0.18mL)。

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℃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℃的反应体系中 H2O2 被分解 1 $\mu$ mol 为 1 个酶活力单位。

2、计算公式：
$$\text{MPO活力 (U/L)} = \frac{\text{A测定} - \text{A对照}}{11.3 \times \text{V样}}$$

V 样：取样中所含血清的量（升），

V 样=前处理后血清浓度 0.5（mL/mL） $\times$ 加样量（0.18 $\times$ 10<sup>-3</sup>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：

MPO+H2O2	复合物；
复合物+AH2（供氢体）	H2O+MPO+A 产物

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 H2O2 减少的量和白细胞的数目