

髓过氧化物酶(MPO)测试盒

比色法 100 管/48 样

一、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 H₂O₂ 减少的量和白细胞的数目。

二、试剂组成与配制:

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 6 个月。

缓冲应用液的配制: 贮备液:双蒸水=1:9, 4℃保存 1 个月。

试剂二: 粉剂×2 支, 4℃保存 6 个月。临用时每支加缓冲应用液 60ml 溶解, 可以 37℃ 加热溶解, 4℃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 6 个月。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℃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, 室温保存 6 个月。

试剂五: 粉剂×2 支, 4℃保存 6 个月。

试剂六: 溶液 0.5ml×1 支, 4℃保存 6 个月。

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。

试剂七: 溶液 6ml×1 瓶, 4℃保存 6 个月。

三、组织样本的 MPO 测定:

(一)、样本前处理:

1、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, 不需要进行离心。

2、取 5%组织匀浆 0.9ml 加 3 号试剂 0.1ml, (如果组织匀浆量不够, 可以按 9:1 的比例减少组织匀浆及 3 号试剂的用量), 充分混匀后 37℃水浴 15 分钟, 取出后待测。

(二)、操作表:

	对照管	测定管
双蒸水 (ml)	3	
样本 (ml)	0.2	0.2

试剂四 (ml)	0.2	0.2
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, 测各管吸光度值。		

(三)、计算:

1、单位定义: 每克组织湿片在 37°C的反应体系中 H₂O₂ 被分解 1 mol 为 1 个酶活力单位。

2、计算公式:
$$MPO \text{ 活力} = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{对照 OD 值}}{11.3 * \times \text{取样量(克)}} **$$

四、血清(浆)样本的 MPO 测定

(一)、血清(浆)样本前处理:

- 1、取血清(浆)与试剂二按 1:1 比例稀释, 充分混匀。
- 2、取上面的混合液 0.9ml 加 3 号试剂 0.1ml (如果混合液量不够, 可以按 9:1 的比例减少混合液及 3 号试剂的用量), 充分混匀后 37°C水浴 15 分钟。

(二)、操作表:

	试剂空白 (可以不做)	对照管	测定管
双蒸水 (ml)	0.2	3	
样本 (ml)		0.2	0.2
试剂四 (ml)	0.2	0.2	0.2
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, 测各管吸光度值。			

(三)、计算:

1、单位定义: 每升血清(浆)在 37°C的反应体系中 H₂O₂ 被分解 1 mol 为 1 个酶活力单位。

2、计算公式:
$$MPO \text{ 活力} = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{对照 OD 值}}{11.3 * \times \text{取样量(克)}} **$$

(单位 / 升) = 11.3 * ×取样量 (升) * *