

## 锰过氧化物酶（MnP）检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1217

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

锰过氧化物酶（EC1.11.1.13）是一种含亚铁血红素的过氧化物酶，主要存在于担子菌中，属于木质素降解酶系，能有效的降解木质素及废水和土壤中比较难降解的氯化物，叠氮化合物、DTT，多环芳烃等。

锰过氧化物酶在 $Mn^{2+}$ 存在的条件下，将愈创木酚氧化为四邻甲氧基连酚，在465nm有特征吸收峰。

### 产品组成：

产品名称	规格	保存条件
试剂一	液体110mL×1瓶	4℃
试剂二	液体2mL×1支	4℃
试剂三	液体4mL×1瓶	4℃，避光
试剂四	液体2mL×1支	4℃

### 自备实验用品及仪器

天平、研钵、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、恒温水浴锅。

### 操作步骤（仅供参考）：

#### 酶液提取

1. 组织：按照质量（g）：试剂一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL试剂一）加入试剂一，冰浴匀浆后于4℃，10000g离心10min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量（ $10^4$ 个）：试剂一体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后4℃，10000g离心10min，取上清置于冰上待测。
3. 培养液或其它液体：直接检测。

#### 测定操作：

	对照管	测定管
试剂一（ $\mu$ L）	120	100
试剂二（ $\mu$ L）		20
试剂三（ $\mu$ L）	40	40
样品（ $\mu$ L）	20	20
试剂四（ $\mu$ L）	20	20
充分混匀，于30℃反应10min，于微量石英比色皿/96孔板，测定465nm处吸光值，记为A对照管和A测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$		

#### 酶活计算公式

##### a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：每毫克蛋白每分钟氧化1nmol愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

$$\text{MnP活性 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 83 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义：每克样品每分钟氧化1nmol愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{MnP活性 (nmol/min/g)} = \Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 83 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：每10<sup>4</sup>个细胞每分钟氧化1nmol愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{MnP活性 (nmol/min/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T = 83 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义：每升培养液每分钟氧化1nmol愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{MnP活性 (nmol/min/L)} = \Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 8.3 \times 10^4 \times \Delta A$$

$\epsilon$ : 愈创木酚摩尔消光系数: 12100L/mol/cm;  $d$ : 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应总体积, 1mL;  $V_{\text{样}}$ : 反应中样本体积, 0.1mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $\text{Cpr}$ : 样本蛋白浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g;  $T$ : 反应时间, 10min

**b. 用96孔板测定的计算公式如下**

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：每毫克蛋白每分钟氧化1nmol愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{MnP活性 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 166 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义：每克样品每分钟氧化1nmol愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{MnP活性 (nmol/min/g)} = \Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 166 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：每10<sup>4</sup>个细胞每分钟氧化1nmol愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{MnP活性 (nmol/min/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T = 166 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义：每升培养液每分钟氧化1nmol愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{MnP活性 (nmol/min/L)} = \Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 1.66 \times 10^5 \times \Delta A$$

$\epsilon$ : 愈创木酚摩尔消光系数: 12100L/mol/cm;  $d$ : 比色皿光径, 0.5cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应总体积, 1mL;  $V_{\text{样}}$ : 反应中样本体积, 0.1mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $\text{Cpr}$ : 样本蛋白浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g;  $T$ : 反应时间, 10min。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com