



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

锰过氧化物酶(Mnp)活性检测试剂盒

货号: R43260

规格: 50 T/48S

保质期: 6个月

产品内容: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系源叶工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体80mL×1瓶	2-8℃保存
试剂二	液体6mL×1瓶	2-8℃保存
试剂三	液体11mL×1瓶	2-8℃保存
试剂四	液体200μL×1支	2-8℃保存

溶液配制:

试剂二: 禁止-20℃冷冻(冰上或者贴近2-8℃冰箱内壁均有可能导致试剂冷冻)

试剂四: 临用前根据实验所需量按照试剂四(μL): 蒸馏水(μL)=1:49 的比例配制, 现用现配。

产品说明:

锰过氧化物酶(Mnp)(EC1.11.1.13) 是一种普遍存在于细菌和真菌中的微生物木质素分解酶, 在微生物木质素分解系统中起着关键作用, 它可以有效的降解木质素以及废水和土壤中比较难降解的化合物, 在生物制浆、生物漂白和污染物的生物降解等工业领域具有广泛应用。

锰过氧化物酶在 Mn^{2+} 环境下, 可将愈创木酚氧化为四邻甲氧基连酚, 四邻甲氧基连酚在465nm 处有吸收峰, 通过检测465nm 处吸光值的变化, 可测定锰过氧化物酶的活性。



需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、超声波细胞破碎仪、研钵/匀浆器、1mL 玻璃比色皿、震荡仪、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理(可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1、组织: 按照样本质量(g): 试剂一体积(mL) 为1:5~10的比例(建议称取约0.1g 组织, 加入1mL 试剂一)加入试剂一, 冰浴匀浆; 10000g 4℃ 离心10min, 取上清置冰上待测。

2、细菌或细胞样本: 收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清, 按照细菌或细胞数量(10^4 个): 试剂一体积(mL) 为500-1000:1 的比例(建议500万细菌或细胞加入1mL 试剂一)加入试剂一, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率300W, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3min), 10000g 4℃离心10min, 取上清置冰上待测。

3、液体样本: 直接检测。若溶液浑浊则离心后取上清进行测定。

二、测定步骤

1、可见分光光度计预热30min 以上, 调节波长至465nm, 蒸馏水调零。

2、测定前根据实验用量取出部分试剂一、试剂二、试剂三和试剂四置于37℃(哺乳动物)或25℃(其他动物) 预热10min 以上。

3、加样表(在1mL玻璃比色皿中依次加入下列试剂):

试剂名称(μL)	测定管
样本(μL)	100
试剂一(μL)	500



试剂二(μL)	100
试剂三(μL)	200
试剂四(μL)	100

将上述试剂分别加入1mL 玻璃比色皿后迅速吹打混匀, 记录第30s 的吸光值 A1 以及10min30s 时的吸光值 A2, 计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。若一次性测定样本过多, 可根据使用量将试剂一、二、三、四按5:1:2:1比例配成工作液后 进行预热, 测定时按照100μL 样本+900μL 工作液加入1mL 玻璃比色皿进行测定。

三、Mnp 活力的计算

1.按样本蛋白质浓度计算

酶活定义: pH4.5 条件下, 每mg 组织蛋白每分钟氧化1nmol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活单位。

$$\text{Mnp 活性(U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 82.64 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2.按样本质量计算

酶活定义: pH4.5 条件下, 每g 组织每分钟氧化1nmol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活单位。

$$\text{Mnp 活性(U/g 质量)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 82.64 \times \Delta A \div W$$

3.按细菌/细胞数量计算

酶活定义: pH4.5 条件下, 每10⁴细菌/细胞每分钟氧化1nmol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活单位。

$$\text{Mnp 活性(U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T = 82.64 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4、按照样本体积计算

酶活定义: pH4.5 条件下, 每mL 血清或液体样本每分钟消耗1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{Mnp 活性(U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div V_{\text{样}} \div T = 82.64 \times \Delta A$$



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

ϵ : 愈创木酚摩尔消光系数: 12100L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 反总: 反应总体积, 0.001L; V 样: 加入样本体积, 0.1mL; V 样总: 提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 10min; 10^9 : 单位换算系数, 1mol=10⁹nmol。

注意事项:

当A1 大于1.2或者 ΔA 大于0.5时, 建议将样本用试剂一稀释后测定; 当 ΔA 过小时, 可以适当加大样本量后重新进行测定。注意同步修改计算公式。

实验实例:

取0.1002g 杏鲍菇加入1mL 试剂一进行冰浴匀浆。10000g 4℃离心10min, 取上清置冰上, 之后按照测定步骤操作, 测得计算
 $A_1=0.011, A_2=0.03, \Delta A=A_2-A_1=0.019$, 按样本质量计算酶活得:

Mnp 活性(U/g 质量)= $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div V_{\text{样}} \div T = 15.67 \text{U/g 质量}$ 。