

# 锰过氧化物酶（MnP）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1225

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：组织、真菌、细胞、培养液或其它液体样本

## 产品简介

锰过氧化物酶（EC1.11.1.13）是一种含铁血红素的过氧化物酶，其广泛存在于白腐担子真菌中，属于木质素降解酶系，是木质素起始降解的关键酶，能有效地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，在农业废弃物处理、生物降解、生物漂白、染料脱色等领域有较多的研究和应用。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析样本中的锰过氧化物酶活性，其原理是锰过氧化物酶在Mn<sup>2+</sup>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。测定465nm处吸光度的变化可计算MnP活性。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	55mL	110mL	4℃保存
试剂二	1mL	2mL	4℃保存
试剂三	2mL	4mL	4℃避光保存
试剂四	1mL	2mL	4℃保存

## 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测465nm处的吸光值）及恒温培养箱或水浴锅  
96孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头  
台式离心机、制冰机  
去离子水

## 试剂准备

试剂一：即用型；使用前平衡到室温；4℃保存。

试剂二：即用型；使用前平衡到室温；4℃保存。

试剂三：即用型；使用前平衡到室温；4℃避光保存。

试剂四：即用型；使用前平衡到室温；4℃保存。

工作液配制：临用前将试剂一、试剂二、试剂三、试剂四按照每孔100 μL：20 μL：40 μL：20 μL的比例混匀（按需要检测的样本数量进行计算，可多配一些以防不够）；现配现用。

## 样本制备

组织：称取0.1g组织加入1mL预冷的试剂一冰浴匀浆，10,000g 4℃离心10min，取上清置于冰上待测。

细胞：收集 $5 \times 10^6$ 个细胞，用冷PBS清洗细胞后弃上清，加入1mL预冷的试剂一冰浴超声波破碎5min（功率20%或200W，超声3s，间隔7s，重复30次），然后4℃ 10,000 g离心10min，取上清置于冰上待测。

培养液或其它液体：直接检测。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用BCA法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

## 产品说明书

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 465nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 工作液在 25℃ 预热 10min 以上。
1. 样本测定：在 96 孔板或微量玻璃比色皿中加入 20 μL 样本和 180 μL 工作液，混匀，记录 465nm 下 30s 时吸光值  $A_1$  和 10min30s 的吸光值  $A_2$ 。计算  $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

### 结果计算

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下：

1. 按照样本质量计算

酶活性单位定义：每 g 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 U。

MnP 活性 (U/g 鲜重) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 165 \times \Delta A \div W$

2. 按照细胞数量计算

酶活性单位定义：每  $10^4$  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 U。

MnP 活性 (U/ $10^4$  cell) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.33 \times \Delta A$

3. 按照液体体积计算

酶活性单位定义：每 mL 液体样本每分钟氧化 1nmol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位 U。

MnP 活性 (U/mL) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 165 \times \Delta A$

4. 按照蛋白浓度计算

酶活性单位定义：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 U。

MnP 活性 (U/mg prot) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 165 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$  L； $\epsilon$ ：愈创木酚摩尔消光系数：12100 L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.5cm； $10^9$ ：1mol=1×10<sup>9</sup>nmol； $V_{\text{样}}$ ：反应中样本本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，g；T：反应时间，10min；500：细菌或细胞总数，500 万；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL。

B. 使用微量比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d：0.5cm 调整为 d：1cm 进行计算即可。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK1841 土壤锰过氧化物酶 (S-Mnp) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1226 木质素过氧化物酶 (LiP) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1038 过氧化物酶 (POD) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1025 谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1037 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

