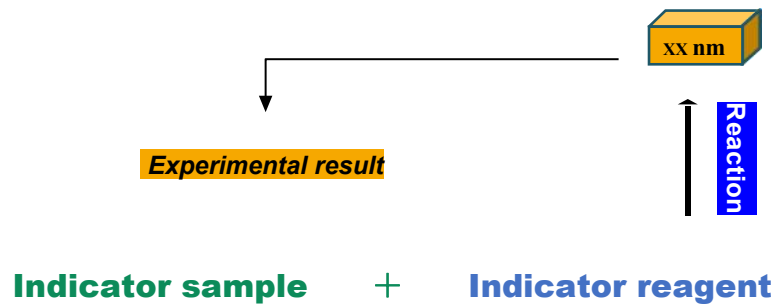


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

## 锰过氧化物酶 (MnP) 试剂盒说明书

### 分光光度法

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	液体75mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体5mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体10mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂四	液体5mL×1 瓶	4°C保存	

#### 产品说明：

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<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。

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、1 mL 玻璃比色皿、恒温水浴锅。

#### 操作步骤：

##### 一、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°C，10000g 离心10min，取上清置于冰上待测。
- 2 细胞：按照细胞数量 (10<sup>4</sup> 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°C，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。

	对照管	测定管
试剂一 (μL)	600	500
试剂二 (μL)		100
试剂三 (μL)	200	200
样品 (μL)	100	100
试剂四 (μL)	100	100

充分混匀，于 37°C 反应 10min，于 1mL 玻璃比色皿，蒸馏水调零，测定 465nm 处吸光值，记为 A 对照管和 A 测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。

### 三、酶活计算公式

#### 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。

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

#### 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。

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

#### 3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：每  $10^4$  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。

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

#### 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。

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

$\epsilon$ ：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； $C_{\text{pr}}$ ：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，10min。