

锰过氧化物酶 (Mnp) 试剂盒 (可见分光光度法)

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1216

产品规格：50管/24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。

产品内容：

试剂一：液体75mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体5mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：液体10mL×1瓶，4℃避光保存。

试剂四：液体5mL×1瓶，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

天平、研钵、低温离心机、可见分光光度计、1mL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℃，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。

二、测定操作

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

充分混匀，于37℃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。

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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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。

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

ϵ : 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; 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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com