

## 锰过氧化物酶（Mnp）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHC5-C24	锰过氧化物酶(Mnp)活性 试剂盒	24T	常量法
PMHC5-C48		48T	

### 一、测定意义：

锰过氧化物酶（Mnp）是一种普遍存在于细菌或真菌的微生物木质素分解酶，在微生物木质素分解酶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。

### 二、测定原理：

锰过氧化物酶在  $Mn^{2+}$  存在的条件下，催化愈创木酚氧化为四邻甲氧基连酚的能力，这一反应在 465nm 处有特征吸收峰，因此可以通过可见分光光度法来测定酶活性。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	液体 6 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 6 mL×1 瓶	液体 12 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 3 mL×1 瓶	液体 6 mL×1 瓶	2-8℃保存
工作液的配制：临用前将试剂一、试剂二、试剂三和试剂四按 5:1:2:1 比例混匀配制成工作液。			

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 465nm，蒸馏水调零；
2. 测定前将配制好的工作液于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他动物）预热 10min；
3. 在石英比色皿中依次加入 50μL 样本和 950μL 工作液，吹打混匀后立即于波长 465nm 处读取第 30s 和 10min30s 的吸光值，分别记为  $A_1$  和  $A_2$ ，计算  $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

### 五、锰过氧化物酶(Mnp)活性计算：

1、按样本鲜重计算：

**单位定义：**在 pH4.5 条件下，每克组织每分钟氧化 1mol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活单位。

$$\text{计算公式：Mnp(U/g)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 165.28 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按样本蛋白浓度计算：

**单位定义：**在 pH4.5 条件下，每毫克组织蛋白每分钟氧化 1mol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活单位。

$$\text{计算公式：Mnp(U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 165.28 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

$\epsilon$ ：愈创木酚摩尔消光系数：12100L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；

$V_{\text{反应}}$ ：反应总体积，0.001L； $V_{\text{样}}$ ：反应中样本体积，0.05mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL，蛋白浓度需自行测定；W，样本质量，g；T：反应时间，10min； $10^9$ ：单位换算系数，1mol=10<sup>9</sup>nmol。

### 六、注意事项：

如果  $A_1$  大于 1.5 或者  $\Delta A$  大于 0.6 时，建议将样本稀释后测定；如果  $\Delta A$  过小时，可以适当加大样本量后重新测定，注意同步修改公式。

**【厂家信息】**

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

**【售后微信】****【说明书核准及修改日期】**

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日