

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-M48	锰过氧化物酶(Mnp)试剂盒	48T	微量法
PMHC5-M96		96T	

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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 1.5 mL×1 瓶	液体 2.5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 2.5 mL×1 瓶	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 1.5 mL×1 瓶	液体 2.5 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. 酶标仪预热 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 25℃预热 10min；
3. 在 96 孔板中依次加入 20μL 样本和 180μL 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 1nmol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活单位。

$$\text{Mnp 活性(U/g 质量)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 137.73 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

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 1nmol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活单位。

$$\text{Mnp 活性(U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 137.73 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

ϵ ：愈创木酚摩尔消光系数：12100L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.6cm；
 $V_{\text{反应}}$ ：反应总体积，0.0002L； $V_{\text{样}}$ ：反应中样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：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=10⁹nmol。

六、注意事项：

如果 A_1 大于 1.5 或者 ΔA 大于 0.4 时，建议将样本稀释后测定；如果 ΔA 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