锰过氧化物酶（Mnp）活性检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	110 mL×1	4℃	
试剂二	2 mL×1	4℃	
试剂三	5 mL×1	4℃避光	
试剂四	2 mL×1	4℃	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）进行冰浴匀浆，然后，10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 细菌/细胞：按照细菌/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 1 mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 300 W，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；然后 10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 液体样本：澄清的液体的样本直接测定，若浑浊则离心后取上清液检测。。

五、测定步骤

1. .酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 465 nm 处。

2. 测定前将试剂一、二、三、四在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）放置 10 min 以上（若一次性测定样本较多，可将试剂一、二、三、四按比例配成混合液，测定时加入 20 μL 样本和 180 μL 混合液测定）。

3. 在 96 孔板中依次加入：

	测定管
样本（μL）	20
试剂一（μL）	100
试剂二（μL）	20
试剂三（μL）	40
试剂四（μL）	20
立即充分混匀并计时，读取 465 nm 处 30s 时的吸光值 A1 和 2 min 30 s 后的吸光值 A2。计算ΔA＝A2-A1。	

六、计算

1. 按照样本质量计算：

单位定义：每克样品每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

锰过氧化物酶活性（nmol/min/g 鲜重）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9] ÷（V 样×W÷V 样总）÷T=688.71×ΔA÷W

2. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

单位定义：每毫克蛋白每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚需的酶量为一个酶活力单位。

锰过氧化物酶活性（nmol/min/mg prot）= [ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷（V 样×Cpr）÷T=688.71×ΔA÷Cpr

3. 按细菌/细胞数量计算：

单位定义：每 10^4 个细菌/细胞每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚需的酶量为一个酶活力单位。

锰过氧化物酶活性（nmol/min/10^4cell）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9] ÷（V 样×N÷V 样总）÷T=688.71×ΔA÷N

4. 按液体样本体积计算：

单位定义：每毫升样本每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

锰过氧化物酶活性（nmol/min/mL）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷V 样÷T=688.71×ΔA

ε：愈创木酚摩尔消光系数：12100 L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.6 cm；V 反总：

反应总体积，2×10^{-4} L；V 样：反应中样本体积，0.02 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，2 min；N：细胞数量，万个。

七、产品简介

锰过氧化物酶是微生物与植物体内重要的木质素降解氧化酶，依赖锰离子介导氧化催化反应。该酶可高效降解木质素、纤维素等难降解有机质，参与生物细胞壁重塑、有机质分解及逆境代谢过程，在生物质转化与植株抗逆修复中具有重要作用，是评价木质素降解代谢与氧化调控能力的重要生理指标。