

土壤锰过氧化物酶 (S-Mnp) 试剂盒说明书

(货号: G0330W 微板法 48 样)

一、产品简介:

锰过氧化物酶 (EC1.11.1.13, Mnp) 是真菌分泌的一种糖基化的胞外蛋白, 含亚铁血红素的过氧化物酶, 主要存在于引起白腐的木腐菌和土壤枯草菌这两个担子真菌中, 属于木质素降解酶系, 能有效的降解木质素及废水和环境其他一些抗性物质, 如腐殖质酸和包括多环芳烃在内的多种有机污染物等。

土壤锰过氧化物酶 (S-Mnp) 在 Mn^{2+} 存在的条件下, 将二甲氧基苯酚 (DMP) 氧化生成的产物在 470nm 处有特征吸收峰。通过检测该产物在 470nm 处的增加速率, 即可得到 Mnp 酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前甩几下使粉剂落入底部, 再加 8mL 无水乙醇溶解备用。
试剂三	粉剂×1 支	4°C 保存	使用前甩几下使粉剂落入底部, 再加 3mL 蒸馏水充分溶解备用。
试剂四	液体 μ L×1 支	4°C 保存	使用前甩几下使液体落入底部, 准备三个新的 EP 管: 每管中加入 2 μ L 液体, 再加 1mL 蒸馏水混匀备用。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、低温离心机、可调式移液器、天平、水浴锅、恒温震荡培养箱。

四、土壤锰过氧化物酶 (S-Mnp) 活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

取新鲜土样风干或者 37 度烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 470nm。
- ② 所有试剂至室温 (25°C) 或于 25°C 水浴条件下孵育 15-30min。
- ③ 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管
土样 (g)	0.05	0.05
试剂一	200	340
试剂二	140	
试剂三	20	20
试剂四	40	40

充分混匀, 30°C 震荡反应 2h 后, 于 12000rpm, 4°C 离心 10min, 取 200 μ L 于 96 孔板中, 读取 470nm 处吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ (每个样本需做一个自身对照)。

【注】若 ΔA 小于 0.01, 可加大土壤样本量或者延长反应时间, 则改变后的样本质量 W 和反应时

间 T 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

酶活性定义：每克土壤每天氧化 1nmol 的 DMP 所需酶量为一个酶活力单位。

$$S\text{-MnP 活性}(\text{nmol/d/g 土样})=(\Delta A \div \varepsilon \div d) \times 10^9 \times V \div W \div T = 174.5 \times \Delta A \div W$$

ε ---DMP 被氧化的产物的摩尔消光系数：55000L/mol/cm；

d ---96 孔板光径，0.5cm；

V ---反应总体积， 4×10^{-4} L；

W ---样本质量，g；

T ---反应时间，2h=1/12d