



多功能氧化酶检测试剂盒

MFO Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK372V

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES372	70ml×1 瓶	4℃保存
AK372-A	25ml×1 瓶	4℃避光保存
AK372-B	粉剂×3 管	-20℃保存; 临用前取 1 管加入 2mL 水溶解, 现配现用
AK372-C	25mL×1 瓶	4℃保存
AK372-D	100mL×1 瓶	4℃保存
AK372-标准品	1ml×1 瓶	4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 多功能氧化酶 (Multifunctional oxidase) 又称混合功能氧化酶, 可产生降解反应, 可使原化学物质变为低毒的或无毒的物质从体内排出; 还可产生激活反应, 可使原化学物质转化为具有亲电子性质, 导致毒性增强, 成为致突变物或终致癌物。近年来对混合功能氧化酶系与外源性化学物质相互作用的深入研究, 对于从分子生物学水平上进一步了解外源性化学物质的毒作用具有重要意义。

原理: MFO 催化对硝基苯甲醚产生对硝基苯酚, 在 400nm 下有特征吸光值。

自备用品:

分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水、氯仿。

酶液提取:

按照组织质量 (g): ES372 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆。12000g 4℃离心 20min, 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 400nm。
2. 标准液的处理: 用蒸馏水将标准液稀释至 200、100、50、25、12.5、6.25、0nmol/mL。
3. 操作表 (在 EP 管中依次加入如下试剂)

试剂名称	测定管 (μL)	空白管 (μL)	标准管 (μL)
AK372-A	500	500	
AK372-B	100	100	
提取液	400	900	
样本	500		
混匀, 37℃水浴 30min			
AK372-C	500	500	
氯仿	2500	2500	
充分混匀萃取, 静置 10min, 取下层氯仿层 1.5mL 至新的管中			
萃取液	1500	1500	
标准品			500
AK372-D	1500	1500	1000
充分混匀萃取, 取上层水相 1mL 于比色皿中, 400nm 下测定吸光值 A 测定、A 空白和 A 标准, $\Delta A = A_{测} - A_{空白}$			

定-A 空白。

注：空白管和标准曲线各只需测 1-2 次。

MFO 活性计算：

1. 标准曲线的建立：

根据标准管的吸光度 (y) 和浓度 (x,nmol/mL) 建立标准曲线，将 ΔA (y) 带入标准曲线中，计算样本生成的产物量 x (nmol/mL)。

2. 活性计算

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白每小时产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{MFO 活性(U/mg prot)} = [x \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 6x \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每小时产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{MFO 活性(U/g 鲜重)} = [x \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 6x \div W$$

注：Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; V 反总: 最终萃取液体积, 1.5 mL; V 样: 加入反应体系中样本体积, 500 μ L =0.2mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万; T: 反应时间, 0.5h。