



多功能氧化酶检测试剂盒

MFO Assay Kit

微量法

产品编号: AK372M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES372	120ml×1 瓶	4℃保存;
AK372-A	24ml×1 瓶	4℃避光保存;
AK372-B	粉剂×3 管	-20℃保存; 临用前取一管加入 2mL 水溶解, 现配现用。
AK372-C	24mL×1 瓶	4℃保存;
AK372-D	64mL×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:

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96 孔板、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. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 400nm。
2. 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)
AK372-A	200	200
AK372-B	40	40
提取液	160	360
样本	200	
混匀, 37℃水浴 30min		
AK372-C	200	200
氯仿	1000	1000
充分混匀萃取, 静置 10min, 取下层氯仿层 0.6mL 至新的管中。		
萃取液	600	600
AK372-D	600	600
充分混匀萃取, 取上层水相 0.2mL 于 96 孔板中, 400nm 下测定吸光值 A 测定与 A 空白, $\Delta A = A$ 测定 - A 空白。空白管只需测一管。		

MFO 活性计算:

标准曲线: $y = 0.0119x + 0.0021$, $R^2 = 0.9997$; y, 吸光度; x, 标准品浓度, 单位 nmol/mL。

1. 按样本质量计算：

单位定义：每 g 样本每分钟产生 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{MFO (nmol/min/g 鲜重)} = (\Delta A - 0.0021) \div 0.0119 \times V_{\text{总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 8.4 \times (\Delta A - 0.0021) \div W$$

2. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟产生 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{MFO (nmol/min/mg prot)} = (\Delta A - 0.0021) \div 0.0119 \times V_{\text{总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 8.4 \times (\Delta A - 0.0021) \div \text{Cpr}$$

注：V_总：最终萃取液体积，0.6 mL；V_样：反应中样品体积，200 μ L；T：反应时间，30min；W：样品质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL。