

Mixed Function Oxidase Activity Assay Kit

多功能氧化酶(MFO)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1390B	多功能氧化酶 (MFO) 活性检测试剂盒 微板法	96T

产品简介:

多功能氧化酶(MFO)又称混合功能氧化酶,经其氧化代谢可产生两种反应:一是降解反应,可使原化学物质变为低毒的或无毒的物质从体内排出。二是激活反应,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。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。

多功能氧化酶(MFO)催化对硝基苯甲醚产生对硝基苯酚,该产物在 405nm 下有特征吸收峰,通过检测该物质在 405nm 处的光吸收增加速率,进而得出 MFO 活性大小。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末×2 支	4°C保存	每支使用前甩几下使试剂落入底部,分别加入 0.6mL 乙醇,完全溶解后备用,现配现用。
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	粉末×2 支	-20°C保存	临用前甩几下或离心使试剂落到底部,每支加 1.2mL 蒸馏水溶解,用不完的试剂分装后-20°C保存,禁止反复冻融,三天内用完。
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

使用方法:

建议正式实验前,选取 2 个样本做预测定,了解实验样品情况,熟悉流程,避免样本和试剂浪费。

一、样本准备:

1. 组织样本准备:

- (a) 称取约 0.1g 组织,加入 1mL 提取液,进行冰浴匀浆;
- (b) 12000rpm 4°C离心 10min 后取上清,置于冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本准备:

- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;
- (b) 取约 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液;超声波破碎细菌或细胞(冰浴,200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);
- (c) 12000rpm 4°C离心 10min 后取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本准备:

若浑浊先离心取上清液液体检测,若是液体澄清直接检测即可。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



二、样品测定:

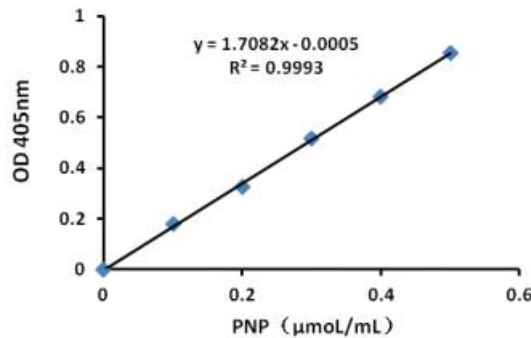
1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 405nm。
2. 所有试剂解冻至室温 (25°C)。
3. 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	50
试剂一	10
试剂二	60
试剂三	20
混匀, 立即于 405nm 处读取吸光值 A1, 37°C 孵育 30min 后读取 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】若 ΔA 小于 0.005, 可增加样本量 V1 (如增至 80μL, 则试剂二相应减少), 或增加取样质量 W (如增至 0.2g), 则改变后的样本量 V1 和样本质量 W 需代入公式重新计算。

三、含量计算

1. 标准曲线方程: $y = 1.7082x - 0.0005$, PNP 摩尔浓度 (μmol/mL), y 是 ΔA 。



2. 按样本鲜重计算:

酶活定义: 每克组织每分钟产生 1nmol 的对硝基苯酚(PNP)为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{MFO}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0005) \div 1.7082 \times 10^3 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 19.5 \times (\Delta A + 0.0005) \div W \end{aligned}$$

3. 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟产生 1nmol 的对硝基苯酚 (PNP) 为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{MFO}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0005) \div 1.7082 \times 10^3 \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \\ &= 19.5 \times (\Delta A + 0.0005) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

4. 按细胞数量计算:

酶活定义: 每 10^4 个细胞每分钟产生 1nmol 的对硝基苯酚 (PNP) 为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{MFO}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell}) &= [(\Delta A + 0.0005) \div 1.7082 \times 10^3 \times V1] \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ &= 0.018 \times (\Delta A + 0.0005) \end{aligned}$$

5. 按液体体积计算:

酶活定义: 每毫升液体每分钟产生 1nmol 的对硝基苯酚 (PNP) 为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{MFO}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) &= [(\Delta A + 0.0005) \div 1.7082 \times 10^3 \times V1] \div V1 \div T \\ &= 19.5 \times (\Delta A + 0.0005) \end{aligned}$$

V---加入提取液体积, 1 mL

V1---加入样本体积, 0.05mL

T---反应时间, 30 min

W---样品质量, g

500---细胞或细菌总数, 万

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。





附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（ $10\mu\text{mol/mL}$ ）：向标准品 EP 管里面加入 1.4mL 蒸馏水超声溶解。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 $\mu\text{mol/ml}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

-20°C保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

电话：400-600-4213

邮箱：techserv@labgic.com

