



多功能氧化酶（MFO）活性检测试剂盒

Mixed Function Oxidase (MFO) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



多功能氧化酶（MFO）活性检测试剂盒

Mixed Function Oxidase (MFO) Activity Assay Kit

一、产品描述

多功能氧化酶系（MFO）是一类由细胞色素 P450、细胞色素 b₅、NADPH-细胞色素 b₅ 还原酶、NADPH-细胞色素 c 还原酶及磷脂等组成的氧化酶系，能够降解或活化多种结构不同的内源或外源化合物，使原化学物质变为低毒物质从体内排出，或转化为具有亲电子性质的物质，导致毒性增强，是造成害虫对杀虫剂产生交互抗性的主要原因。

多功能氧化酶能够催化对硝基苯甲醚生成对-硝基苯酚，产物在 400 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征多功能氧化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	-20°C 避光保存	使用前每瓶加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂三	液体 18 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂五	液体 90 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 避光保存	10 μmol/mL 对硝基苯酚标准液

需自备试剂：氯仿（CHCl₃，MW = 119.38，CAS: 67-66-3）；

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、氯仿和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 20 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm，蒸馏水调零。

②**标准曲线的建立**：使用前将 10 $\mu\text{mol/mL}$ 对硝基苯酚标准液使用**试剂五**稀释至 100、80、40、20、10、5 nmol/mL 即为标准稀释液。

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (nmol/mL)	10000	1000	1000	80	40	20	10
标准液体积 (μL)	100	100	80	500	500	500	500
试剂五体积 (μL)	900	900	920	500	500	500	500
稀释后浓度 (nmol/mL)	1000	100	80	40	20	10	5

吸光值测定：分别吸取 200 μL 标准稀释液（标准组）和 200 μL 试剂五（空白组）至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 400 nm 处吸光值，记为 A 标准和 A 空白，计算 ΔA 标准=A 标准-A 空白；

标准曲线方程：以 100、80、40、20、10、5 nmol/mL 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ 。

③在 2 mL 离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
试剂一	200	200
试剂二	40	40
试剂三	160	360
粗酶液	200	-
充分混匀，37°C准确反应 30 min		
试剂四	200	200
氯仿	1000	1000
①充分混匀，室温萃取 10 min； ②吸取下层溶液至新的离心管中；		
下层溶液	600	600
试剂五	600	600
充分混匀，室温萃取 10 min		

吸光值测定：吸取 200 μL 上层水相至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 400 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照，计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照；注：对照组只需测定 1-2 次。将 ΔA 测定带入标准方程 $y=kx+b$ 中计算 x (nmol/mL)。

3.多功能氧化酶（MFO）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{MFO (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{氯}}}{\text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.167 \times x}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

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

$$\text{MFO (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{氯}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{0.167 \times x}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.2 mL；V 氯：反应体系中加入氯仿的体积，1 mL；
V 样总：粗酶液总体积，1 mL；W：样品质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，30 min。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量或适当延长反应时间后再进行测定，计算时相应修改；

②试剂二配制后有效期较短，为便于试验安排附赠一瓶试剂二作为备用，每瓶均可满足至少 100 个样本的测定；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

