

亚铁氧化酶（HP）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1230

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）或其他生物体液

产品简介

亚铁氧化酶（Hsphaetin, HP）作为铜蓝蛋白的同系物,是近年来发现的铁转运蛋白。HP 催化亚铁离子（ Fe^{2+} ）氧化为三价铁离子（ Fe^{3+} ），在介导铁的跨膜转运中有重要作用。本试剂盒提供了一种简便的比色测定法，用于测定样本中的 HP 活性。其原理是以一定浓度的 Fe^{2+} 为底物，在 HP 的催化作用下 Fe^{2+} 被氧化为 Fe^{3+} ， Fe^{2+} 可与菲咯嗪形成有色复合物，在 562nm 处有特征吸收峰，通过测定 Fe^{2+} 的减少速率可测得亚铁氧化酶的活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂二	0.75mL	1.5mL	4℃ 保存
试剂三	5.5mL	11mL	4℃，避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 562nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

恒温箱或水浴锅、离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 避光保存。

样本制备

组织：称取 0.1g 组织，加入 1mL 预冷的去离子水，冰上匀浆。10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞和细菌：收集 5×10^6 个细胞或细菌，用冷 PBS 清洗细胞或细菌后弃上清，加入 1mL 预冷的去离子水，冰上匀浆。10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清、血浆或其它生物学液体：可直接测定，根据预实验确定稀释倍数。若溶液浑浊则离心取上清置于冰上待测。

实验步骤

1. 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 562nm，分光光度计去离子水调零。

2. 测定操作表（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中按照如下方式加样）：

试剂	测定孔（ μL ）	对照孔（ μL ）
----	----------------------	----------------------

产品说明书

试剂一	50	50
试剂二	10	10
样本	10	10
去离子水	30	30
试剂三	0	100
混匀，40℃静置 30min		混匀，立即测定 A _{对照} ，无需孵育
试剂三	100	

混匀，立即测定 A_{测定}， $\Delta A = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ 。（每个测定孔需设一个对照孔）。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果 ΔA 大于 0.5，或测定孔有明显浑浊，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数；如果 ΔA 小于 0.001，可增加样本量进行检测。

结果计算

标准状态下测定的曲线回归方程为： $y = 8.2135x - 0.0006$ ， $R^2 = 0.9998$ ；（x 为标准品浓度， $\mu\text{mol/mL}$ ；y 为吸光值 ΔA ）

1. 按样本质量计算

单位定义：每 g 样本在反应体系中每分钟氧化 1nmol Fe^{2+} 定义为一个酶活力单位 U。

$\text{HP (U/g 鲜重)} = (\Delta A + 0.0006) \div 8.2135 \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 1000 = 40.58 \times (\Delta A + 0.0006) \div W$

2. 按液体体积计算

单位定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟氧化 1nmol Fe^{2+} 定义为一个酶活力单位 U。

$\text{HP (U/mL)} = (\Delta A + 0.0006) \div 8.2135 \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T \times 1000 = 40.58 \times (\Delta A + 0.0006)$

3. 按细胞数量计算

单位定义：每 1 万个细胞在反应体系中每分钟氧化 1nmol Fe^{2+} 定义为一个酶活力单位 U。

$\text{HP (U/10}^4 \text{ Cells)} = (\Delta A + 0.0006) \div 8.2135 \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 1000 = 0.081 \times (\Delta A + 0.0006)$

4. 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟氧化 1nmol Fe^{2+} 定义为一个酶活力单位 U。

$\text{HP (U/mg prot)} = ((\Delta A + 0.0006) \div 8.2135 \times V_{\text{反应}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T \times 1000 = 40.58 \times (\Delta A + 0.0006) \div Cpr$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系体积，0.1mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积 0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，30min；W：样品质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；500：细胞总数，500 万；1000， μmol 到 nmol 的转换系数。

注意事项

- 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
- 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
- 本试剂盒应在有效期内使用，并严格按照说明书进行存储。
- 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
- 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1231 高铁还原酶（FCR）检测试剂盒（微量法）
PMK1222 植酸酶检测试剂盒（微量法）
PMK1225 锰过氧化物酶（MnP）检测试剂盒（微量法）
PMK1226 木质素过氧化物酶（LiP）检测试剂盒（微量法）
PMK1228 莽草酸脱氢酶（SD）检测试剂盒（微量法）



更多产品详情了解，请关注公众号：