

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（ μ L）	对照孔（ μ L）
----	---------------	---------------

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

1. 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。
2. 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。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并严格按照说明书进行存储。
4. 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。
5. 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:

