



亚铁氧化酶活性检测试剂盒

HP Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK472V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK472-A	50mL×1 瓶	4℃保存;
AK472-B	3mL×1 瓶	4℃保存;
AK472-C	30mL×1 瓶	4℃避光保存;

※ 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: 亚铁氧化酶 (Hephaestin, HP) 作为铜蓝蛋白的同系物,是近年来发现的铁转运蛋白亚铁氧化酶, HP 属亚铁氧化酶家族成员,具有亚铁氧化酶的活性,参与体内铁代谢。HP 的表达可受铁、铜及锌等金属离子的调节。HP 催化 Fe^{2+} 氧化生成 Fe^{3+} , 在介导铁的跨膜转运中有重要作用。

原理: HP 催化 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} , Fe^{2+} 和 ferrozine 反应显色, 在 560 nm 下有特征吸光值。通过测定 Fe^{2+} 的减少速率可测得亚铁氧化酶的活性。

自备用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

按照组织质量 (g): 水 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 蒸馏水), 进行冰浴匀浆。10000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 560 nm, 蒸馏水调零。
2. 样本测定: 在玻璃比色皿中加入下列试剂

试剂名称	测定管 (μL)	对照管 (μL)
AK472-A	250	250
AK472-B	50	50
样本	50	50
蒸馏水	150	150
AK472-C	混匀, 40℃静置 30 min	500
AK472-C	500	
混匀, 立即测定 A 对照和 A 测定, $\Delta A = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ 。(每个测定管需设一个对照管)		

HP 活性计算公式:

标准曲线: $y = 16.427x - 0.0006$, $R^2 = 0.9998$; (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 样本每分钟氧化 1nmol Fe^{2+} 定义为一个酶活力单位。

HP (nmol/min/g 鲜重) = $(\Delta A + 0.0006) \div 16.427 \times V_{\text{总}} \div T \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times 1000 = 20.29 \times (\Delta A + 0.0006) \div W$

2. 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 蛋白每分钟氧化 1nmol Fe²⁺ 定义为一个酶活力单位。

$$HP \text{ (nmol/min/mg prot)} = (\Delta A + 0.0006) \div 16.427 \times V_{\text{总}} \div T \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \times 1000 = 20.29 \times (\Delta A + 0.0006) \div Cpr$$

注： V 总：反应体系体积，0.1 mL；V 样：加入样本体积 0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，30min；W：样品质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；1000，μmol 到 nmol 的转换系数。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))