

HRP ; 辣根过氧化物酶 ; Peroxidase, Horseradish(HRP)

产品编号 : MB6017

质量标准 : BR,RZ>2.5,活性>250U/mg

包装规格 : 25MG/ 100MG

产品形式 : solid

基本信息

CAS No.	9003-99-0
储存条件	-20℃, 避光防潮密闭干燥
溶解性 (25℃)	water(10 mg/ml)
注意事项	溶解性是在室温下测定的, 如果温度过低, 可能会影响其溶解性。
其他说明	为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

简介 : HRP 是一种分子量达 44 000 的糖蛋白, 由无色的酶蛋白和深棕色的铁卟啉结合而成, 中性糖和氨基糖约占 18%, 主要有甘露糖、木糖、阿拉伯糖和己糖胺等。每一个 HRP 分子中含一个氯化血红素 IX 作辅基, 该辅基在 403nm 波长处有最大吸收峰, 而去辅基的酶蛋白在 275nm 波长处有最大吸收。HRP 在 403nm 的 OD 值与 275nm 的 OD 值之比, 也就是所谓的 RZ(Reinheits Zahl)值。RZ 值仅说明血红素基团在 HRP 中的含量, 并非表示 HRP 制剂的真正纯度, 而且 RZ 值高的 HRP 制剂, 并不意味着酶活性也高。但可以一纯酶溶液在 10mm 光径 403nm 波长下的吸光度来计算酶浓度[1%(W/V)酶溶液吸光度为 22.5, 浓度为 227umol/L]。纯 HRP 干燥贮存于-20oC 可保持稳定, 使用 1.36 mol/L 甘油、10mmol/L 磷酸钠、30umol/L 牛血清白蛋白和 20umol/L 细胞色素 C(pH 7.4)溶液作为基质冷冻保存, 可使酶结合物稳定数年。HRP 对热及有机溶剂的作用比较稳定, 用甲苯与石蜡切片处理或用纯乙醇或 10%甲醛水溶液固定做冷冻切片, 均不能使其活性改变。氰化物或硫化物在 10⁻⁵~10⁻⁶mol/L 浓度时具有可逆性地抑制 HRP 的作用; 氟化物、叠氮化合物或羟胺仅在高于 10⁻³mol / L 浓度时抑制 HRP; HRP 还可被羟甲基过氧化氢不可逆地抑制。强酸也是 HRP 的强烈的抑制剂。

因此, 在酶免疫测定常选用上述的某些化合物如氟化钠、叠氮钠和强酸等作为酶反应的终止剂。此外, 在配制酶免疫测定的稀释缓冲液时, 为防止酶失活, 应避免使用叠氮钠作防腐剂。HRP 的同工酶主要可分为三种类型: ①含糖量高的酸性同工酶。②等电点接近于中性(或微碱)的含糖量相对较低的同工酶。③含糖量低的碱性(PI>11)同工酶。酶免疫试验中所使用的 HRP, 以 PI 为 8.7~9.0 的所谓“C”同工酶为主要组成成分, 其他同工酶的活性则很低。“C”同工酶的共价结构由 2 个密切接近的区域组成, 血红素基团则位于其间而成夹心结构, 糖链以 8 个不同的部位结合于多肽。天然的酶所带的纯电荷极少; 无游离的。一氨基, 仅有 2 个可测出的组氨酸, 6 个赖氨酸似乎全被糖链外壳所遮盖。因此, HRP 一般仅有 1~2 个可用于耦联的氨基。

根据 HRP 的催化特性，ELISA 中一般使用过氧化氢(H₂O₂)作为 HRP 底物之一，在供氢体(即色原底物)存在时，HRP 与 H₂O₂ 的反应迅速而又专一。由图 4 可见，HRP 被 H₂O₂ 二价地氧化形成复合物 I，而复合物 I 又可与氢供体的二步连续的单价相互作用而还原至起始状态。复合物 II 是被氧化的带一个电子的中间产物，当 H₂O₂ 过量，由于复合物 III 或 IV 的形成，酶活性受抑制(以后补上)。30% 的 H₂O₂ 并不稳定。由于 H₂O₂ 既为 HRP 的底物，也为其抑制剂，因而 ELISA 要想得到满意的测定结果，H₂O₂ 必须限定在一定的浓度范围内，终浓度通常为 2~6 mmol/L。然而在实际研究工作中，一般很少注意这一点。大多数研究者所使用的 H₂O₂ 的浓度常较理想反应所需的量大 2~4 倍。吸附于固相的 HRP 较游离的 HRP 更易受过量 H₂O₂ 的抑制。如果 30% H₂O₂ 贮存液浓度经测定证实确为 30%，则稀释 10 000—12 000 倍常是较为理想的底物。H₂O₂ 的摩尔消光系数为 10mm 光径 240nm 波长下为 43.6，因此，可通过这种方式来检测 H₂O₂ 工作溶液的浓度。

固相 ELISA 中，当温度高于 20°C 时，HRP 活性常较低，在底物溶液中加入非离子去垢剂聚山梨醇-20 或 TritonX-100 可延迟 HRP 的失活，且可使反应温度加大，但非离子去垢剂的这种酶活性保护效应依氢供体的不同而有差异。如以 2,2'-联氮-双-[3-乙基苯并噻唑啉]-6-磷酸(ABTS)为氢供体，则只能保护 20% 的酶活性，而以邻联茴香胺(ODA)为氢供体时，酶活性的保护提高至 90%。

HRP 之所以是迄今为止在 ELISA 中应用最为广泛的标记用酶，主要是因为其一方面易于提取，价格相对低廉；另一方面性质稳定，耐热及有机溶剂的作用，与抗原或抗体偶联后，活性很少受损失。

物理性状及指标：

外观：.....褐色冷冻干粉

溶解性：.....water(10 mg/ml)

储存条件：-20°C，避光防潮密闭干燥

美仑相关产品推荐

MB9882	HRP 标记抗体稀释液
MB2410	HRP 标记牛血清白蛋白
MB6031	3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)

用途及描述：科研试剂，广泛应用于分子生物学，药理学等科研方面，严禁用于人体。无色的酶蛋白和棕色的铁卟啉结合而成的糖蛋白。辣根过氧化物酶与底物孵育时，产生一种着色、荧光或发光标记的分子的衍生物，以便可以定量。辣根过氧化物酶已被证明抑制 cydAB 突变，使其突变水平稍微降低。已知其抑制剂是叠氮化钠，氰化物，L-胱氨酸，重铬酸盐，亚乙基硫脲，羟胺，硫化物，钒酸，对氨基苯甲酸，和 Cd²⁺，Co²⁺，Cu²⁺，Fe³⁺，Mn²⁺，Ni²⁺，和 Pb²⁺ 离子。辣根过氧化物酶是目前使用最广泛的一种标记酶，用来标记抗体或其它蛋白质，既能用于定位检测，也能用于定量测定。辣根过氧化物酶 (HRP) 的从辣根根 (Amoracia RUSTICANA) 中分离。它是用于生物化学中的应用，如 western 印

迹，ELISA 和免疫组化。辣根过氧化物酶是用来放大弱信号，增加被探测的目标分子，如蛋白质。它通常被用于确定葡萄糖和溶液中的过氧化物的量。它也被用于在烟曲霉快速药敏测定。

使用方法推荐

一：**储存液的配制，用于细胞培养相关实验**：按照表格里溶解性溶解，如用于细胞实验,请配制成液体之后用 0.22um 过滤后再加入细胞。

二：**储存液的保存**：建议现配现用，液体不是很稳定；短期建议放于 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ ，也可分装成单次用量，2 年稳定。避免反复冻融。

【注意】

- 我司产品为非无菌包装，若用于细胞培养，请提前做预处理，除去热原细菌，否则会导致染菌。
- 部分产品我司仅能提供部分信息，我司不保证所提供信息的权威性，以上数据仅供参考交流研究之用。

参考文献：

1. Zollner, H. Handbook of Enzyme Inhibitors 1993, 367-368, ()
2. From Concept to Product Development Klaus Sellheyer Enzyme Immunoassay , 169-171, (1996).
3. In vitro lipid deposition on hydrogel and silicone hydrogel contact lenses.
4. Bernt, E. and Bergmeyer, H.U. Methods of Enzymatic Analysis , 2246-2248, (1974)