



高铁还原酶活性检测试剂盒

FCR Assay Kit

微量法

产品编号: AK471M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK471-A	6mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK471-B	6mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK471-C	6mL×1 瓶	4℃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: 高铁还原酶 (ferric-chelate reductase, FCR) 催化高价铁螯合物中的 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} , 在部分物种铁元素的吸收中有重要作用。

原理: FCR 催化 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} , Fe^{2+} 和 ferrozine 反应显色, 在 562nm 下有特征吸光值。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、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. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 562nm, 蒸馏水调零。
2. 工作液配制: 将 AK471-A:B:C 以 1:1:1 的比例混合。临用前配制, 用多少配多少。
3. 样本测定: 在微量石英比色皿/96 孔板中加入下列试剂

试剂名称	测定管 (μL)
样本	50
工作液	150
混匀, 记录初始吸光值 A1 和 30min 后的吸光值 A2。ΔA=A2-A1。	

FCR 活性计算公式:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 8.0014x + 0.0011$, $R^2 = 0.9997$;

1. 按样本质量计算:

单位定义: 每 g 样本每分钟产生 1nmol Fe^{2+} -ferrozine 定义为一个酶活力单位。

$\text{FCR (U/g 鲜重)} = (\Delta A - 0.0011) \div 8.0014 \times 1000 \times V_{\text{标}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 4.166 \times (\Delta A - 0.0011) \div W$

2. 按样本蛋白浓度计算

单位定义: 每 mg 蛋白每分钟产生 1nmol Fe^{2+} -ferrozine 定义为一个酶活力单位。

$\text{FCR (U/mg prot)} = (\Delta A - 0.0011) \div 8.0014 \times 1000 \times V_{\text{标}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{Cpr}) \div T = 4.166 \times (\Delta A - 0.0011) \div \text{Cpr}$

注: $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 50μL; $V_{\text{标}}$: 加入标准品体积, 50μL; 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](#))

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 4.0007x + 0.0011$, $R^2 = 0.9997$; y, 吸光度

1. 按样本质量计算:

单位定义: 每 g 样本每分钟产生 1nmol Fe^{2+} -ferrozine 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FCR (U/g 鲜重)} = (\Delta A - 0.0011) \div 4.0007 \times 1000 \times V_{\text{标}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 8.331 \times (\Delta A - 0.0011) \div W$$

2. 按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每 mg 蛋白每分钟产生 1nmol Fe^{2+} -ferrozine 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FCR (U/mg prot)} = (\Delta A - 0.0011) \div 4.0007 \times 1000 \times V_{\text{标}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 8.331 \times (\Delta A - 0.0011) \div \text{Cpr}$$

注: $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 50 μL ; $V_{\text{标}}$: 加入标准品体积, 50 μL ; 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。