



## 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
AK471-标准品	粉剂×1 支	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  $\text{Fe}^{3+}$  还原为  $\text{Fe}^{2+}$ , 在部分物种铁元素的吸收中有重要作用。

**原理:** FCR 催化  $\text{Fe}^{3+}$  还原为  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  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、微量玻璃比色皿/96 孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、浓硫酸 (>95%, AR)、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:**

- 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。
- 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。
- 标准品: 临用前加入 0.71mL 蒸馏水和 10uL 浓硫酸, 配制成 50umol/mL  $\text{Fe}^{2+}$  标准液。溶解好的标准品 2-8℃可以保存 2 周。
- 62.5nmol/mL 标准溶液的配制: 临用前取 50uL 50umol/mL  $\text{Fe}^{2+}$  标准液和 950uL 蒸馏水混合配制 2.5umol/mL 标准溶液; 再吸取 25uL 2.5umol/mL (2500nmol/mL) 和 975uL 蒸馏水混合配制 62.5nmol/mL 标准溶液备用。
- 标准管测定: 吸取 50uL 62.5nmol/mL  $\text{Fe}^{2+}$  标准液, 加入 150uL 显色剂, 充分混匀, 测定 562nm 下的吸光度, 记为 A 标准, 此时  $\text{Fe}^{2+}$  终浓度为 15.625nmol/mL, 标准管只需做 1-2 次。
- 空白管测定: 吸取 50uL 蒸馏水, 加入 150uL 显色剂, 充分混匀, 测定 562nm 下的吸光度, 记为 A 空白, 计算 AA 标准=A 标准-A 空白, 空白管只需做 1-2 次。
- 样本测定: 在微量玻璃比色皿/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, 计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。	

**FCR 活性计算公式:**

- 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每 mg 组织蛋白在每 mL 体系中每分钟生成 1nmol  $\text{Fe}^{2+}$  定义为一个酶活力单位。

FCR 活性 (U/mg prob) =  $\Delta A \times C \div \Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 总} \div (Cpr \times V \text{ 样}) \div T = 2.083 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div Cpr$

2. 按样本质量计算:

单位的定义: 每 g 组织在每 mL 体系中每分钟生成 1nmol  $\text{Fe}^{2+}$  定义为一个酶活力单位。

FCR 活性(U/g 质量) =  $\Delta A \times C_{\text{标}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 2.083 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

注: C 标:  $\text{Fe}^{2+}$  标准液最终浓度, 15.625nmol/mL; V 反总: 反应体系总体积, 0.2mL; Cpr: 上清液蛋白浓度, mg/mL; V 样: 加入反应体系中上清液体积, 50 $\mu\text{L}$ =0.05mL; V 提取: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间 30min; W: 样本质量, g。