

高铁还原酶（ferric-chelate reductase, FCR）试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

注 意： 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

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、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 6mL×1 瓶，4℃避光保存；

试剂二：液体 6mL×1 瓶，4℃避光保存；

试剂三：液体 6mL×1 瓶，4℃保存。

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。

Lifemall.asia

To be with you

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：将试剂一、二、三以 1:1:1 的比例混合。临用前配制，用多少配多少。
- 3、在微量石英比色皿/96 孔板中，加入 50μL 样本上清和 150μL 工作液，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:
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。

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

$$= 4.166 \times (\Delta A - 0.0011) \div W$$

(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。

$$FCR \text{ (nmol/min/mg prot)} = (\Delta A - 0.0011) \div 8.0014 \times 1000 \times V_{\text{标}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times C_{\text{pr}}) \div T$$

$$= 4.166 \times (\Delta A - 0.0011) \div C_{\text{pr}}$$

V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; V 样: 反应中样品体积, 50μL; V 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。

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。

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

$$= 8.331 \times (\Delta A - 0.0011) \div W$$

(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。

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

$$= 8.331 \times (\Delta A - 0.0011) \div C_{\text{pr}}$$

V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; V 样: 反应中样品体积, 50μL; V 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 nmo