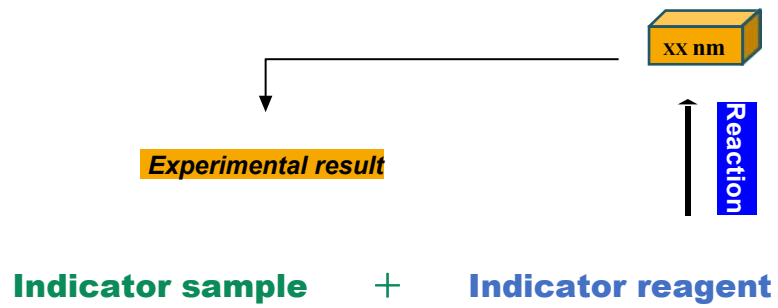


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

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

### 微量法

**注意:** 正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

测定意义:

高铁还原酶(ferric-chelate reductase, FCR) 催化高价铁螯合物中的 Fe<sup>3+</sup>还原为 Fe<sup>2+</sup>, 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<sup>3+</sup>还原为 Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>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。

试剂的组成和配制:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂三	液体 6mL×1 瓶	4°C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°C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 50 μL 样本上清和 150 μL 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 1nmolFe<sup>2+</sup>-ferrozine 定义为一个酶活力单位。

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

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

(2) 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 蛋白每分钟产生 1nmolFe<sup>2+</sup>-ferrozine 定义为一个酶活力单位。 FCR

$$\begin{aligned}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= (\Delta A - 0.0011) \div 8.0014 \times 1000 \times V_{\text{标}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 4.166 \times (\Delta A - 0.0011) \div C_{\text{pr}}\end{aligned}$$

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

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 1nmolFe<sup>2+</sup>-ferrozine 定义为一个酶活力单位。 FCR

$$\begin{aligned}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= (\Delta A - 0.0011) \div 4.0007 \times 1000 \times V_{\text{标}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ &= 8.331 \times (\Delta A - 0.0011) \div W\end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 蛋白每分钟产生 1nmolFe<sup>2+</sup>-ferrozine 定义为一个酶活力单位。 FCR

$$\begin{aligned}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= (\Delta A - 0.0011) \div 4.0007 \times 1000 \times V_{\text{标}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ &= 8.331 \times (\Delta A - 0.0011) \div C_{\text{pr}}\end{aligned}$$

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