

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

分光光度法

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^{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、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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 15mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂三	液体 15mL×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 1mL 玻璃比色皿中, 加入 250 μ L 样本上清和 750 μ L 工作液, 混匀, 记录初始吸光值 A1 和 30min 后的吸光值 A2。 $\Delta A = A2 - A1$ 。

FCR 活性计算公式:

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, 250 μ L; V 标: 加入标准品体积, 250 μ L; T: 反应时间, 30min; W: 样品质量, g; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; 1000, μ mol 到 nmol 的转换系数。