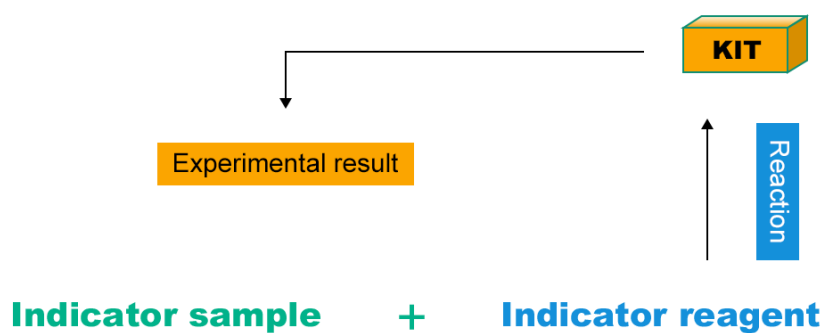


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0950

Size: 100T/96S

高铁还原酶 (FCR) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、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。

三、需自备的仪器和用品:

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。

四、试剂的组成和配置:

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℃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	

五、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。

六、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 μ L 样本上清和 150 μ L 工作液，混匀，记录初始吸光值 A1 和 30min 后的吸光值 A2。 $\Delta A = A2 - A1$ 。

七、FCR 活性计算：

- 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。

$$\begin{aligned} \text{FCR (nmol/min/g 鲜重)} &= (\Delta A - 0.0011) \div 8.0014 \times 1000 \times V_{\text{标}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ &= 4.166 \times (\Delta A - 0.0011) \div W \end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

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

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

V 样总：加入提取液体积，1 mL；V 样：反应中样品体积，50 μ L；V 标：加入标准品体积，50 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。

● 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^{2+} -ferrozine 定义为一个酶活力单位。

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

(3) 按样本蛋白浓度计算

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

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

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。