



## 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；

※ 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 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。

**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、微量石英比色皿/96 孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、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。
- 样本测定：在微量石英比色皿/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。ΔA=A2-A1。	

#### FCR 活性计算公式：

##### 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<sup>2</sup> = 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<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 1nmol Fe<sup>2+</sup>-ferrozine 定义为一个酶活力单位。

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

**注：**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。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))

**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。

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

注:  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1 mL;  $V_{\text{样}}$ : 反应中样品体积, 50 $\mu$ L;  $V_{\text{标}}$ : 加入标准品体积, 50 $\mu$ L;  $T$ : 反应时间, 30min;  $W$ : 样品质量, g;  $Cpr$ : 样本蛋白浓度, mg/mL; 1000,  $\mu$ mol 到 nmol 的转换系数。