

使用说明书

Instruction Manual

高铁还原酶活性检测试剂盒（微量法）

FCR Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

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。

检测原理

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。

产品组成及储存条件

100T/96S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0073M-A	6mL×1 瓶	4℃避光保存
CB0073M-B	6mL×1 瓶	4℃避光保存
CB0073M-C	6mL×1 瓶	4℃保存

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、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。

二、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。

三、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 CB0073M-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。 $\Delta A = A2 - A1$ 。	

四、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： $y = 8.0014x + 0.0011$ ， $R^2 = 0.9997$ 。

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。

$$\text{FCR (U/g 鲜重)} = (\Delta A - 0.0011) \div 8.0014 \times 1000 \times V_{\text{标}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 4.166 \times (\Delta A - 0.0011) \div W$$

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。

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

注： 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 1nmol Fe^{2+} -ferrozine 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FCR (U/g 鲜重)} = (\Delta A - 0.0011) \div 4.0007 \times 1000 \times V_{\text{标}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 8.331 \times (\Delta A - 0.0011) \div W$$

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。

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

注： 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。

注意事项

1. 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

