

# 高铁还原酶（FCR）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1231

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）或其他生物体液

## 产品简介

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。本试剂盒提供了一种简便的比色测定法，用于测定样本中的 FCR 活性。其原理是 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。通过测定  $Fe^{2+}$  增加的速率可测得高铁还原酶的活性。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	3mL	6mL	4℃，避光保存
试剂二	3mL	6mL	4℃，避光保存
试剂三	3mL	6mL	4℃保存

## 自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 562nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

恒温箱或水浴锅、离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

## 试剂准备

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。

## 样本制备

组织：称取 0.1g 组织，加入 1mL 预冷的去离子水，冰上匀浆。10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞和细菌：收集  $5 \times 10^6$  个细胞或细菌，用冷 PBS 清洗细胞或细菌后弃上清，加入 1mL 预冷的去离子水，冰上匀浆。10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清、血浆或其它生物学液体：可直接测定，根据预实验确定稀释倍数。若溶液浑浊则离心取上清置于冰上待测。

## 实验步骤

1. 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 562nm，分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定：在 96 孔板或微量玻璃比色皿中加入 50  $\mu$ L 样本上清和 150  $\mu$ L 工作液，混匀，记录初始吸光值  $A_1$  和 30min 后的吸光值  $A_2$ 。  $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

**注意：**实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果  $\Delta A$  大于 0.5，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数；如果  $\Delta A$  小于 0.001，可增加样本量进行检测。

### 结果计算

标准状态下测定的曲线回归方程为： $y=8.0014x+0.0011$ ， $R^2=0.9997$ ；(x 为标准品浓度， $\mu\text{mol/mL}$ ；y 为吸光值  $\Delta A$ )

#### 1. 按样本质量计算

单位定义：每 g 样本在反应体系中每分钟产生  $1\text{nmolFe}^{2+}$ -ferrozine 定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{FCR (U/g)} = (\Delta A - 0.0011) \div 8.0014 \times 1000 \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 16.664 \times (\Delta A - 0.0011) \div W$$

#### 2. 按液体体积计算

单位定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟产生  $1\text{nmolFe}^{2+}$ -ferrozine 定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{FCR (U/mL)} = (\Delta A - 0.0011) \div 8.0014 \times 1000 \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 16.664 \times (\Delta A - 0.0011)$$

#### 3. 按细胞数量计算

单位定义：每 1 万个细胞在反应体系中每分钟产生  $1\text{nmolFe}^{2+}$ -ferrozine 定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{FCR (U/10}^4 \text{ Cells)} = (\Delta A - 0.0011) \div 8.0014 \times 1000 \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.033 \times (\Delta A - 0.0011)$$

#### 4. 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 蛋白在反应体系中每分钟产生  $1\text{nmolFe}^{2+}$ -ferrozine 定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{FCR (U/mg prot)} = (\Delta A - 0.0011) \div 8.0014 \times 1000 \times V_{\text{反应}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 16.664 \times (\Delta A - 0.0011) \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系体积，0.2mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积 0.05mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，30min；W：样品质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；500：细胞总数，500 万；1000， $\mu\text{mol}$  到  $\text{nmol}$  的转换系数。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK1230 亚铁氧化酶 (HP) 检测试剂盒(微量法)

PMK1222 植酸酶检测试剂盒(微量法)

PMK1225 锰过氧化物酶 (MnP) 检测试剂盒(微量法)

PMK1226 木质素过氧化物酶 (LiP) 检测试剂盒(微量法)

PMK1228 莽草酸脱氢酶 (SD) 检测试剂盒(微量法)



更多产品详情了解，请关注公众号：