



CheKine™ 高铁还原酶 (FCR) 活性检测试剂盒 (微量法)

Cat #: KTB1621

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	高铁还原酶 (FCR) 活性检测试剂盒 (微量法)		
REF	货号: KTB1621	LOT	批号: 见产品标签
	适用样本: 动植物组织、血清 (浆) 或其他液体		
	保质期: 4°C 避光保存 6 个月		

原理

高铁还原酶 (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。 Fe^{2+} 会和 ferrozine 反应显色, 在 562 nm 处有特征吸光值。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	65 mL	65×2 mL	4°C, 避光保存
Reagent I	3 mL	6 mL	4°C, 避光保存
Reagent II	3 mL	6 mL	4°C
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4°C

注意: 正式检测前, 建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计 (能测 562 nm 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
- 恒温水浴锅、制冰机、离心机
- 去离子水、浓硫酸
- 研钵或匀浆器

试剂准备

Extraction Buffer: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 避光保存。

Reagent I: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 避光保存。

Reagent II: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

Working Reagent: 临用前配制; 根据实验用量将 Extraction Buffer、Reagent I、Reagent II 以 1:1:1 的比例混合, 现用现配。

标准品制备:

Standard: 临用前配制; 加入 0.71 mL 去离子水和 10 μL 浓硫酸, 配制成 50 $\mu\text{mol/mL}$ Fe^{2+} 标准液; 配制好的标准液 4°C 可以保存 2 周。

注意: Standard 低毒, 建议在通风橱进行实验。

50 nmol/mL 标准溶液: 现用现配; 临用前取 20 μL 50 $\mu\text{mol/mL}$ Fe^{2+} 标准液和 980 μL 去离子水混合配制成 1 $\mu\text{mol/mL}$ 标准溶液; 再吸取 50 μL 1 $\mu\text{mol/mL}$ (1,000 nmol/mL) 和 950 μL 去离子水混合配制成 50 nmol/mL 标准溶液备用。

样本制备

注意: 推荐使用新鲜样本, 如果不立即进行实验, 样本可在 -80°C 保存 1 个月。测定时, 应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时, 需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 组织样本: 称取约 0.1 g 组织样本, 加入 1 mL Extraction Buffer, 冰浴匀浆, 15,000 g, 4°C 离心 10 min, 取上清液, 置冰上待测。

2. 血清 (浆) 等液体样本: 直接测定。若液体有浑浊则离心取上清测定。

注意: 如需测定蛋白浓度, 推荐使用 Abbkine 货号: KTD3001 的蛋白质定量试剂盒 (BCA 法) 进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min, 调节波长到 562 nm。可见分光光度计用去离子水调零。

2. 空白孔测定: 在微量玻璃比色皿或 96 孔板中, 加入 50 μL 去离子水和 150 μL Working Reagent, 混匀, 记录吸光值 $A_{\text{空白}}$, 空白孔只需做 1-2 次。

3. 标准孔测定: 在微量玻璃比色皿或 96 孔板中, 加入 50 μL 50nmol/mL Fe^{2+} 标准液和 150 μL Working Reagent, 混匀, 记录吸光值 $A_{\text{标准}}$, 计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$, 此时 Fe^{2+} 浓度为 12.25 nmol/mL, 标准孔只需做 1-2 次。

4. 样本测定: 在微量玻璃比色皿或 96 孔板中, 加入 50 μL 样本上清和 150 μL Working Reagent, 混匀, 记录初始吸光值 A_1 和室温 30 min 后的吸光值 A_2 。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_2 - A_1$ 。

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 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.01, 可以增加样本量或者延长反应时间后再进行测定; 如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1.5, 建议将样本上清用 Extraction Buffer 适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。

结果计算

注意: 我们为您提供的计算公式, 包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

1. 按样本蛋白浓度计算:

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

$$\text{FCR (U/mg prot)} = \Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 1.67 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算:

单位的定义: 每 g 组织每分钟产生 1 nmol Fe^{2+} -ferrozine 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FCR (U/g 鲜重)} = \Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.67 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

3. 按样本体积计算:

单位的定义: 每 mL 血清 (浆) 每分钟产生 1 nmol Fe^{2+} -ferrozine 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FCR (U/mL)} = \Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 1.67 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$$

$C_{\text{标准}}$: Fe^{2+} 标准液最终浓度, 12.5 nmol/mL; $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 0.2 mL; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, 0.05 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入 Extraction Buffer 体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 30 min。

结果展示

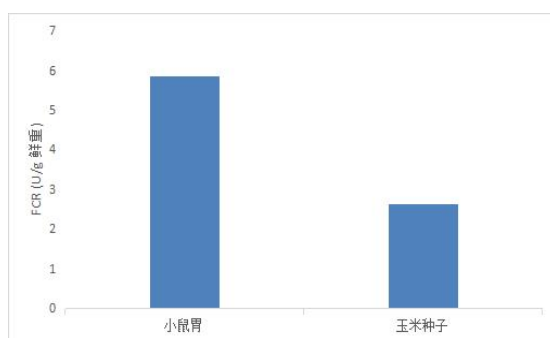


Figure 1. 本试剂盒测定小鼠胃和玉米种子中 FCR 的活性

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1015	CheKine™ α -葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。