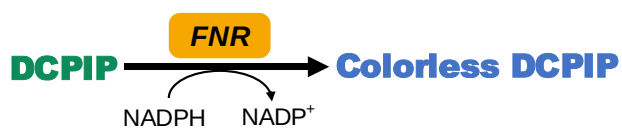




铁氧还蛋白还原酶 (FNR) 活性检测试剂盒

Ferredoxin-NADP⁺ Reductase (FNR) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



铁氧还蛋白还原酶（FNR）活性检测试剂盒

Ferredoxin-NADP⁺ Reductase (FNR) Activity Assay Kit

一、产品描述

铁氧还蛋白还原酶（FNR）是一种普遍存在的单分子构造的黄素酶，主要催化 NADP（H）和铁氧还蛋白或黄素氧还蛋白之间的可逆反应，通过自身结合的 FAD 在不同的还原电势反应中进行单电子或双电子传递，在多种代谢过程的电子传递过程中起着重要作用。

铁氧还蛋白还原酶可催化 DCPIP 还原，同时使 NADPH 转化为 NADP⁺，DCPIP 在 645 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化速率即可表征铁氧还蛋白还原酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 100 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C避光保存	使用前加入 22 mL 试剂一充分溶解 (配制后 4°C可保存 1 个月)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 1.5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（10⁴ 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 645 nm，蒸馏水调零。

②**检测工作液的制备(现用现配)**: 使用前根据使用量，按照试剂二: 试剂三=19:1 的体积比配制，充分混匀即为检测工作液。

③在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	5
检测工作液	195

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 60 s（总时间）时 645 nm 处吸光值，记为 A1；

②测定 180 s（总时间）时 645 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

3.铁氧还蛋白还原酶（FNR）活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

①按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟还原 1 nmol DCPIP 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FNR (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1818.18 \times \Delta A}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟还原 1 nmol DCPIP 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FNR (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1818.18 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟还原 1 nmol DCPIP 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FNR (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1818.18 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.005 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：DCPIP 摩尔消光系数， 2.2×10^4 L/mol/cm； d_1 ：96 孔板光径，0.5 cm；T：反应时间，2 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 10^9 nmol。

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

①按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟还原 1 nmol DCPIP 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FNR (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{909.09 \times \Delta A}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟还原 1 nmol DCPIP 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FNR (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{909.09 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟还原 1 nmol DCPIP 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FNR (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{909.09 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.005 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：DCPIP 摩尔消光系数， 2.2×10^4 L/mol/cm； d_2 ：微量玻璃比色皿光径，1.0 cm；T：反应时间，2 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 10^9 nmol。

四、注意事项

①准确在相应时间点完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若使用酶标仪需使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

