

铁检测试剂盒(亚铁嗉微板法)

产品简介:

铁是人体必需微量元素,总含量约为 3270mg,铁分布较广,有 67.6%的铁作为血红蛋白分子的辅基分布于血红蛋白中,参与铁的运输;骨骼和肌红蛋白中各存在 2.59%和 4.15%,储存铁约占 25.37%血清中铁均以三价铁离子形式与转铁蛋白结合,因此测定血清铁时,首先需要 Fe^{3+} 与转铁蛋白分离。

Biorigin 铁检测试剂盒(亚铁嗉微板法)是采用微板法以亚铁嗉为底物进行铁的检测,在酸性介质中与转铁蛋白结合的血清铁从转铁蛋白中解离出来,其他样品中的铁在酸性介质环境下也会被解离,再被还原剂还原为 Fe^{2+} ,后者与亚铁嗉生成紫红色化合物,通过酶标仪检测 562nm 处吸光度,适用于检测血清、血浆、组织等样品中的铁含量;上述检测方法属于直接检测法,应设血清空白,纠正血清本身的色度,根据公式计算出铁含量,该检测试剂盒在 140 $\mu\text{mol/L}$ 以下线性关系良好,甘油三酯 $\leq 3.39\text{mmol/L}$,胆红素 $\leq 171\mu\text{mol/L}$,对本法基本无干扰。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	BN27487 100T	Storage
试剂(A): 铁标准(100 $\mu\text{g/ml}$)	1ml	4°C 避光
试剂(B): 铁标准稀释液	2ml	RT
试剂(C): Fe Assay Buffer	25ml	4°C
试剂(D): 亚铁嗉显色液	1ml	4°C 避光
试剂(E): ddH ₂ O	10ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料:

- 1、离心管或试管、酶标仪、96 孔板

操作步骤(仅供参考):

- 1、(选做)制备样品:

- ①血浆、血清样品:血浆、血清按照常规方法制备, -20°C 冻存,用于 Fe 的检测。
- ②细胞或组织样品:取恰当细胞或组织进行匀浆,低速离心取上清, -20°C 冻存,用于 Fe 的检测。
- ③高浓度样品:如果样品中含有较高浓度的 Fe,可以使用 ddH₂O 稀释,不宜使用普通蒸馏水稀释。

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

④(选做)样品准备完毕后可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的 Fe 含量。

- 2、制备铁标准工作液：取适量的铁标准(100μg/ml)，按铁标准(100μg/ml)：铁标准稀释液=1:49 的比例配制铁标准(2μg/ml)，即为铁标准工作液；4℃避光保存，3 个月有效。
- 3、Fe 加样：选用经稀盐酸处理及去离子水清洁的 96 孔板，按照下表设置空白孔、标准孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡；如果样品中的铁离子含量过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行孔。

加入物(单位：μl)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH ₂ O	75	—	—
铁标准(2μg/ml)	—	75	—
待测样品	—	—	75
Fe Assay Buffer	200	200	200
混匀，于 562nm 处，以空白孔调零，读取测定孔的吸光度(即血清空白， $A_{\text{血清空白}}$)。			
亚铁嗪显色液	8.5	8.5	8.5

- 4、Fe 检测：混匀，室温静置 15min 或 37℃孵育 10min，以空白孔调零，酶标仪 562nm 处检测标准孔、测定孔的吸光度(即为 $A_{\text{标准}}$ ， $A_{\text{测定}}$)，1h 内比色完毕。

计算：

血浆铁、血清铁

$$= \{ [A_{\text{测定}} - (A_{\text{血清空白}} \times 0.97)] / A_{\text{标准}} \} \times 35.8 \quad (\text{单位：}\mu\text{mol/L})$$

$$= \{ [A_{\text{测定}} - (A_{\text{血清空白}} \times 0.97)] / A_{\text{标准}} \} \times 2 \quad (\text{单位：mg/L})$$

组织铁、细胞铁

$$= \{ [A_{\text{测定}} - (A_{\text{血清空白}} \times 0.97)] / A_{\text{标准}} \} \times 35.8 / \text{Pr} \quad (\text{单位：}\mu\text{mol/L})$$

$$= \{ [A_{\text{测定}} - (A_{\text{血清空白}} \times 0.97)] / A_{\text{标准}} \} \times 2 \quad (\text{单位：mg/L})$$

$$= \{ [A_{\text{测定}} - (A_{\text{血清空白}} \times 0.97)] / A_{\text{标准}} \} \times 35.8 / (\text{Pr} \times N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \quad (\text{单位：}\mu\text{mol/N 个})$$

$$= \{ [A_{\text{测定}} - (A_{\text{血清空白}} \times 0.97)] / A_{\text{标准}} \} \times 2 / (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \quad (\text{单位：mg/N 个})$$

式中： $A_{\text{测定}}$ =测定孔加入亚铁嗪显色液后测得的吸光度

$A_{\text{血清空白}}$ =测定孔未加入亚铁嗪显色液前测得的吸光度

$A_{\text{标准}}$ =标准孔的吸光度

Pr=待测样本蛋白浓度(g/L)

N=细胞或细菌总数

$V_{\text{样}}$ =反应体系中待测样品加入量，L

$V_{\text{样总}}$ = 样品提取液总体积, L

单位换算: 铁标准($2\mu\text{g/ml}$) = 铁标准(2mg/L) = 铁标准($35.8\mu\text{mol/L}$)

$\mu\text{g/dl} = \mu\text{mol/L} / 0.179$

$\mu\text{mol/L} = 0.179 * \mu\text{g/dl} = 17.9 * \mu\text{g/ml}$

参考区间: 成年健康人血清铁: 男性: $11 \sim 30\mu\text{mol/L}$ ($60 \sim 170\mu\text{g/dl}$)

女性: $9 \sim 27\mu\text{mol/L}$ ($50 \sim 150\mu\text{g/dl}$)

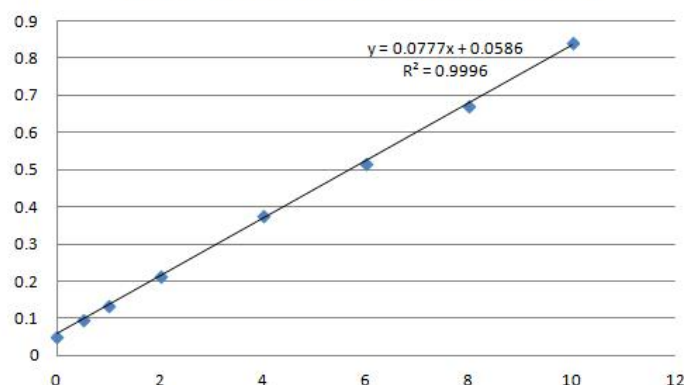
注意事项:

- 1、溶血样本对检测有干扰, 尽量避免采用溶血样本。
- 2、如果样品浓度过高, 应用蒸馏水稀释后重测, 结果乘以稀释倍数。
- 3、实验过程中用到的水, 不可用普通的蒸馏水, 尽量采用高纯度的去离子水。
- 4、玻璃器材需要 10% 的盐酸浸泡 24h, 取出后用去离子水冲洗后才可以使使用。
- 5、避免与铁器接触, 以防铁污染。
- 6、标准品呈色 24h 稳定, 血清呈色 30min 内稳定, 随着时间的延长, 颜色会慢慢加深, 应在 1h 内比色完毕。
- 7、0.97 是体积校正值。
- 8、该法批内差异 $CV \leq 3.1\%$; 批间差异 $CV \leq 2.6\%$ 。
- 9、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。
- 10、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 12 个月有效; 室温运输, 按要求保存。

附录: 标准曲线制作: 在室温条件下按说明书操作, 用分光光度计 562nm 对系列标准(0、0.5、1、2、4、6、8、10 $\mu\text{g/ml}$)进行吸光度的测定, 其标准曲线如下(仅供参考):

铁检测试剂盒(亚铁嗉比色法)



注意: 由于检测仪器和操作手法等条件的不同, 标准曲线会有差异, 该值仅供参考, 根据测定经验显示铁标准在 $0.1\mu\text{g/ml}$ 以下, $40\mu\text{g/ml}$ 以上, 标准曲线会有偏差。

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd