Ferrous iron Content Assay Kit

亚铁含量（亚铁嗪比色法）检测试剂盒说明书

货号：BN72636 | 方法：微板法 | 规格：96 样

一、产品简介：

亚铁即二价铁可与亚铁嗪生成紫红色化合物，该有色物质在 562nm 处有特征吸收峰，进而计算得出亚铁含量。适用于检测组织、血清等样品中的亚铁含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 26mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体×2 支	4℃保存	用前甩几下或离心使粉体落入底部，每支再加入 1.2mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体 2mL×1 支	4℃保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	临用前用试剂三稀释 50 倍(即取 10μL 的标准品至 EP 管中，再加 490μL 的试剂三)，制备成 2μg/mL 的亚铁标准品。

三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、亚铁含量检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、 样本制备：

① 组织样本：

取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心 5min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10^4）：提取液(mL)为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

2、上机检测：

①酶标仪预热 30min，设定波长到 562nm。

② 所有试剂解冻至室温，在 EP 管中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	标准管	空白管

		（仅做一次）	（仅做一次）
样本	120		
标准品		120	
蒸馏水			120
试剂一	260	260	260
试剂二	20	20	20
充分混匀，置室温 15min 后，若浑浊则需 3000rpm 离心 5min 后，取 200μL 上清液至 96 孔板中，于波长 562nm 处读取各管吸光度 A。			

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照组织质量计算：

亚铁含量(μg/g)=(C 标准×V1)×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷(V2÷V×W)×D

=2×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白) ÷W×D

亚铁含量(nmol/g)=(C 标准×V1)×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷(V2÷V×W) ×10^3÷Mr×D

=35.81×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白) ÷W×D

2、按细胞数量计算：

亚铁含量(μg/10^4 cell)=(C 标准×V1)×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷(V2÷V×细胞数量) ×D

=2×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白) ÷细胞数量

亚铁含量(nmol/10^4 cell)=(C 标准×V1)×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷(V2÷V×细胞数量) ×10^3÷Mr×D

=35.81×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白) ÷细胞数量×D

3、按照液体体积计算：

亚铁含量(μg/mL)=(C 标准×V1)×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷V2×D

=2×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)×D

亚铁含量(μmol/L)=(C 标准×V1)×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷V2×10^3÷Mr×D

=35.81×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)×D

C 标准---亚铁标品浓度，2μg/mL； V1---加入标准品体积，0.12mL；

V2---加入样本体积，0.12mL； V---提取液体积，1mL；

W---样本取样质量，g； D---稀释倍数，未稀释即为 1；

Mr---亚铁分子量，55.847； 细胞数量---若取 500 万则把 500 代入公式计算。