

# 亚铁离子检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1887

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

最低检出限：1.56μmol/L

线性范围：1.56μmol/L-100μmol/L

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）等液体样本

## 产品简介

铁是人体必需的微量元素之一，对于维持机体正常生理功能具有重要作用。亚铁离子是血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素及其他酶系统的重要组成成分，帮助氧的运输，促进脂肪氧化。缺乏铁元素容易造成贫血、代谢紊乱，并影响机体的免疫功能。铁过量是引发或加剧多种慢性病，如：糖尿病、心血管疾病、神经退化性疾病的危险因素。本试剂盒提供了一种简单的方法来检测样本中亚铁离子浓度，其原理是  $Fe^{2+}$  在酸性环境下与三吡啶三吡啶形成蓝色的配合物  $Fe^{2+}$ -TPTZ，在 593nm 处有特征吸收峰，通过测定 593nm 吸光度的变化可计算  $Fe^{2+}$  的含量。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	60mL	120mL	4℃保存
试剂一	10mL	20mL	4℃保存
试剂二	1mL	2mL	-20℃避光保存
标准品	粉剂×1支	粉剂×1支	4℃保存

## 自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 593nm 处的吸光度）及水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机

浓硫酸、去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

## 试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；分装-20℃保存。

工作液的配制：临用前配制，将试剂一、试剂二按 10:1 的比例混合，现配现用。

标准品：含 10mg  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ，临用前加入 900μL 去离子水和 20μL 浓硫酸，配成 40mmol/L (40000μmol/L) 标准品，4 度可保存 2 周或分装-20 度长期保存。

标准曲线设置：取 10μL 40mmol/L (40000μmol/L) 标准品用 990μL 去离子水稀释至 400μmol/L。取 200μL 400μmol/L 的标准品用 600μL 去离子水稀释至 100μmol/L。用 100μmol/L 按下表所示，进行下一步稀释：

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	浓度 (μmol/L)
Std. 1	800μL 100μmol/L	0	100

## 产品说明书

Std. 2	400μL of Std. 1	400	50
Std. 3	400μL of Std. 2	400	25
Std. 4	400μL of Std. 3	400	12.5
Std. 5	400μL of Std. 4	400	6.25
Std. 6	400μL of Std. 5	400	3.13
Std. 7	400μL of Std. 6	400	1.56

**注意：标准品现配现用；稀释后的标准溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。**

### 样本制备

动植物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，转移到 1.5mL EP 管中，10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），转移到 1.5mL EP 管中，10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

血清（浆）等液体样本：直接检测，若有浑浊离心后取上清。

**注意：1. 推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。**

**2. 如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 593nm，可见光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依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)
去离子水	100	0	0	200
标准品	0	100	0	0
样本	0	0	100	100
工作液	200	200	200	0

充分混匀，37℃静置 10min，于 593nm 测定吸光值，计算  $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}} - A_{\text{对}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标}} - A_{\text{空}}$ 。（空白孔只需做一次，设置对照是为了消除样本本身颜色的影响，如果是细胞等无明显颜色的样本无需设置对照， $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}} - A_{\text{空}}$ ）

**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  $A_{\text{测}}$  大于 0.8，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。**

### 结果计算

#### 1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将样本的  $\Delta A_{\text{测}}$  代入方程得到浓度 y 值（ $1 \mu\text{mol/L} = 1 \text{nmol/mL}$ ）

#### 2. 亚铁离子含量的计算

（1）按液体样本的体积计算

亚铁离子含量 ( $\mu\text{mol/L}$ ) = y

（2）按样本质量计算

亚铁离子含量 ( $\text{nmol/g}$ ) =  $y \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}} \times W) = y \div W$

（3）按细胞数量计算

亚铁离子含量 ( $\text{nmol}/10^4 \text{ Cells}$ ) =  $y \times V_{\text{样本}} \div (500 \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}}) = y \div 500 = 0.002y$

（4）按样本蛋白浓度计算

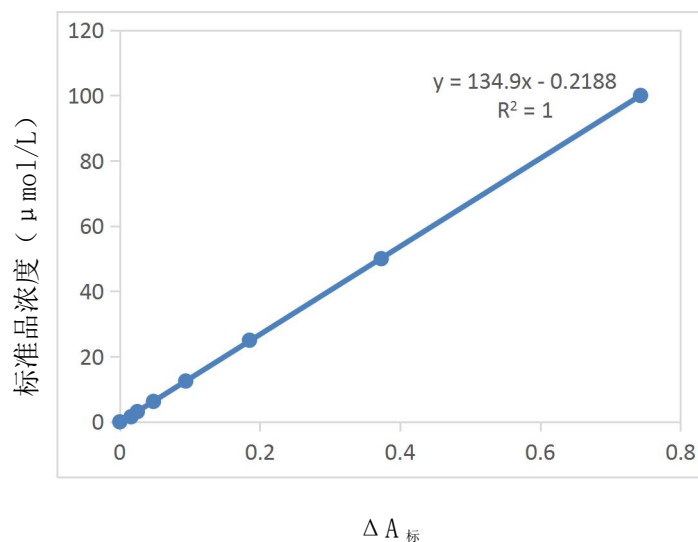
亚铁离子含量 ( $\text{nmol}/\text{mg prot}$ ) =  $y \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times \text{Cpr}) = y \div \text{Cpr}$

## 产品说明书

$V_{\text{样本}}$ : 加入反应体系中上清液体积, 0.1mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $W$ : 样品质量, g; 500: 细胞数量,  $5 \times 10^6$ ;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白质浓度, mg/mL。

### 结果展示

典型标准曲线



### 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:

PMK1807 血清总铁结合力(TIBC)检测试剂盒(微量法)

PMK1808 血清铁检测试剂盒(微量法)

PMK1810 血钾检测试剂盒(微量法)

PMK1811 血锌检测试剂盒(微量法)

PMK1817 血钙检测试剂盒(微量法)

PMK1818 血磷检测试剂盒(微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

