

## 总铁离子含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA3429

产品规格：48T/48S；96T/96S

### 产品原理：

铁是人体必须的微量元素之一，它是血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素及其他酶系统的主要成分，帮助氧的运输，促进脂肪氧化。缺乏铁元素容易造成贫血、代谢纷乱，并影响机体的免疫功能。总铁离子含量检测试剂盒（微量法）可检测动植物组织，血清（浆）或其他液体等生物样本。在该试剂盒中，亚硫酸钠还原 $Fe^{3+}$ 生成 $Fe^{2+}$ ， $Fe^{2+}$ 在酸性条件下与三吡啶基三嗪形成蓝色配合物，在593nm处有吸收峰，通过测定该波长吸光度即可计算总铁离子的含量。

### 产品组成：

试剂名称	48T/48S	96T/96S	保存条件
Extraction Buffer I	60mL	120mL	2-8°C，避光
Extraction Buffer II	10mL	20mL	2-8°C，避光
Reagent I	10mL	15mL	2-8°C，避光
Reagent II	20mL	30mL	2-8°C，避光
Standard	1mL	1mL	2-8°C，避光

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：

1. 酶标仪或可见分光光度计（能测 593nm 处的吸光度）
2. 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、1.5mL 离心管
3. 恒温箱、制冰机、低温离心机
4. 去离子水、氯仿
5. 匀浆器或研钵（如果是组织样本）

### 试剂准备：

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

**Extraction Buffer II:** 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。为避免污染，建议将Reagent I分装后使用。

**Reagent II:** 即用型；使用前，平衡到室温。4°C避光保存。

**Standard:** 即用型；10 $\mu$ mol/mL $Fe^{3+}$ 标准溶液；使用前，平衡到室温。4°C避光保存。使用10 $\mu$ mol/mL Standard，按照下表所示，进一步稀释成标准品：

序号	Standard体积 ( $\mu$ L)	ReagentII体积 ( $\mu$ L)	浓度 (nmol/mL)
Std.1	20 $\mu$ L of 10 $\mu$ mol/mL Standard	1980	100
Std.2	375 $\mu$ L of Std.1(100nmol/mL)	125	75
Std.3	250 $\mu$ L of Std.1(100nmol/mL)	250	50
Std.4	150 $\mu$ L of Std.1(100nmol/mL)	350	30
Std.5	100 $\mu$ L of Std.1(100nmol/mL)	400	20
Std.6	50 $\mu$ L of Std.1(100nmol/mL)	450	10
Std.7	25 $\mu$ L of Std.1(100nmol/mL)	475	5
Blank	0	500	0

注意：每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在4小时内使用。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

### 样本制备:

注意: 建议使用新鲜样本。如果不立即使用, 可将样品在-80℃下保存一个月。测定时, 应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时, 需在4h内完成样品解冻。

1. 组织: 称取约0.1g样本, 加入1mL Extraction Buffer I, 用匀浆器或研钵冰浴匀浆, 10,000g, 4℃离心10min, 取上清液, 置冰上待测。
2. 血清(浆)等液体样本: 取55μL样本, 加入165μL Extraction Buffer II 混合均匀(即稀释4倍), 置冰上待测。如果样本浑浊, 5,000g, 4℃离心5min, 取上清液, 置冰上待测。

### 注意:

- (1) 本试剂盒提取液不能用于蛋白含量测定, 如需测定蛋白含量, 用去离子水重新提取样本后进行蛋白浓度测定。如需测定蛋白浓度, 推荐使用蛋白质定量试剂盒(BCA法)进行样本蛋白质浓度测定。
- (2) 为避免铁污染, 所有的样本处理和转移操作不要使用铁制器具。如有需要, 可用1%稀盐酸浸泡处理所用器具4h。

### 实验步骤:

1. 酶标仪或可见分光光度计预热30min以上, 调节波长到593nm, 可见分光光度计用去离子水调零。
2. 操作表(下述操作在1.5mL EP管中操作):

试剂	空白管(μL)	标准管(μL)	测定管(μL)
样本	0	0	200
Standard	0	200	0
Reagent II	200	0	0
Reagent I	100	100	100
充分混匀, 37℃孵育40min, 流水冷却至室温, 空白管和标准管取200μL至96孔板或微量玻璃比色皿中, 记录593nm处吸光值。测定管进行以下操作:			
氯仿	0	0	100
充分涡旋震荡2min, 10,000g, 室温离心5min, 小心吸取上层无机相200μL至96孔板或微量玻璃比色皿中, 记录593nm处吸光值。			

3. 空白孔记为A<sub>空白</sub>, 标准孔记为A<sub>标准</sub>, 测定孔记为A<sub>测定</sub>。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白}$ ,  $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。

### 注意:

- (1) 空白管和标准管只需做1-2次。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 $\Delta A_{测定}$ 小于0.02可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测定}$ 大于0.6, 样本可用对应的Extraction Buffer进一步稀释, 计算结果乘以稀释倍数, 或减少提取用样本量。
- (2) 每次检测不要超过3个样本, 反应完成后需立即完成吸光值检测, 避免造成实验误差。
- (3) 氯仿会腐蚀96孔板, 所以在吸取上层无机相时注意不要吸到下层氯仿。

### 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. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为x轴,  $\Delta A_{标准}$ 为y轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程, 将 $\Delta A_{测定}$ 带入方程得到x(nmol/mL)。

2. 总铁离子含量的计算:

- (1) 按蛋白浓度计算

$$\text{总铁离子(nmol/mg 蛋白)} = (V_{\text{样}} \times x) \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = x \div C_{\text{pr}}$$

- (2) 按样本鲜重计算:

$$\text{总铁离子(nmol/g 鲜重)} = (V_{\text{样}} \times x) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = x \div W$$

- (3) 按样本体积计算:



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

总铁离子(nmol/mL)=F×x=4x

V<sub>样</sub>: 加入反应体系中样本体积, 0.2mL; V<sub>样总</sub>: 加入 Extraction BufferI 体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; F: 液体样本稀释倍数, 4。

### 结果展示:

以下数据仅供参考, 实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

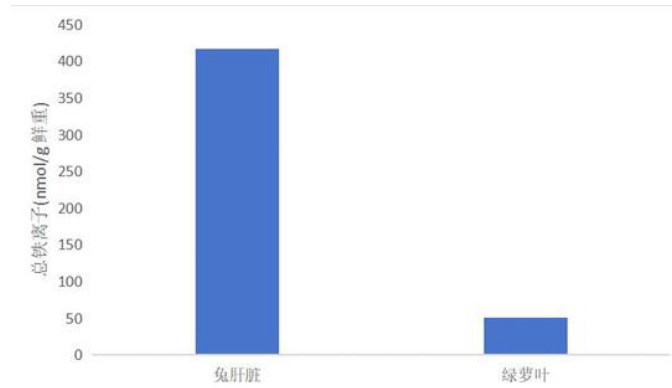


Figure 1. 本试剂盒测定兔肝脏和绿萝叶中总铁离子的含量



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司  
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com