



亚铁离子含量检测试剂盒 (TPTZ, 微量法)

储存温度 2-8°C. 避光储存, 6个月。

运输条件 低温运输, 收到后请及时放到储存条件下储存。

产品介绍

铁是人体必需的元素之一, 对人体的新陈代谢和身体健康具有重要作用, 血液中铁的含量不足, 就会造成缺铁性贫血。铁存在于人体所有的细胞内, 各组织、器官包括各内分泌腺都含有铁。肝脏、脾脏和肺组织内含量较为丰富。成人内含铁 3~5 克, 大部分都以蛋白质复合物形式存在, 极少部分以离子的形态存在。亚铁离子是血红素和血红蛋白中的关键元素, 同时也在许多生化反应中起到重要作用。本试剂盒采用比色法对动植物组织、血清(浆)或其他液体中的亚铁离子进行定量, 样本中的 Fe^{2+} 在酸性条件下与三吡啶基三嗪(TPTZ)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 Fe^{2+} 的含量。

产品组份

R41142	组分	48 T	96 T	储存条件
R41142A	缓冲液	15 mL	30 mL	2-8°C. 避光保存
R41142B	显色液	7 mL	14 mL	2-8°C. 避光保存
R41142C	亚铁离子标准品(40mM)	0.5 mL	1 mL	2-8°C. 避光保存
R41142D	标准品稀释液	5 mL	10 mL	2-8°C. 避光保存
R41142E	提取液	15 mL	30 mL	2-8°C. 避光保存

使用方法

1 样品准备

(1) 组织: 按照每 0.01 g 组织加入 0.1 mL 提取液的比例, 用匀浆器或研钵冰浴匀浆。然后冰浴 15 分钟, 每 3min 上下颠倒混匀一次, 以充分裂解细胞。10000g, 4°C离心 10 min, 收集上清液, 置冰上待测。



(2) 血清(浆)等液体样本: 取 55 μL 样本, 加入 165 μL 缓冲液混合均匀(即稀释 4 倍), 置冰上待测。如果样本浑浊, 5000 g, 4°C 离心 5 min, 取上清液, 置冰上待测。

注: 本试剂盒提取液不能使用 BCA 蛋白定量, 如需测定蛋白浓度, 推荐使用源叶即用型 Bradford 蛋白定量试剂盒(去垢剂兼容型)。为确保样品数值在标准曲线范围内, 建议进行预实验将样品设置多个稀释倍数, 以确定样品中亚铁离子的大致浓度, 如果数值不在标准曲线范围内, 请调整样品的稀释倍数或者样品的量。样本稀释液为缓冲液, 血清(浆)等液体样本在样本处理过程中已稀释 4 倍, 通常无需再进一步稀释。

2 绘制标准曲线

将 40 mmol/L(40000 $\mu\text{mol/L}$)标准品用标准品稀释液进行稀释得到 100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625 $\mu\text{mol/L}$ 的标准品, 现配现用。

标准品稀释可参考下表:

序号	稀释前浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	标准品体积(μL)	标准品稀释液体积 (μL)	稀释后浓度 ($\mu\text{mol/L}$)
1	40000	10	990	400
2	400	150	450	100
3	100	300	300	50
4	50	300	300	25
5	25	300	300	12.5
6	12.5	300	300	6.25
7	6.25	300	300	3.125
8	3.125	300	300	1.5625

备注: 下述实验中每个标准管需 200 μL 标准品(注意不要在此步骤直接检测吸光度)。

3 样品测定

(1) 酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长到 593 nm。

(2) 按下表设置反应体系加样。设置不加样品的空白对照管。



试剂名称(μL)	空白对照管	标准品管	测定样品管
样品(μL)	0	0	200
标准品(μL)	0	200	0
缓冲液(μL)	200	0	0
显色液(μL)	100	100	100

(3) 混匀, 37°C 孵育 20 min, 取 200 μL 上清液于酶标板各对应孔中, 在酶标仪 593 nm 处测定各孔 OD 值。空白孔记为 A 空白, 标准孔记为 A 标准, 测定孔记为 A 测定。

计算: $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

4 亚铁离子含量计算

4.1 标准曲线的绘制: 以标准溶液浓度为 x 轴, $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 y 轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程, 将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程得到样品浓度 C_{sample} (μmol/L)。

4.2 亚铁离子浓度计算:

4.2.1 血清(浆)等液体样本: $\text{Fe}^{2+} \text{ 含量 } (\mu\text{mol/L}) = C_{\text{sample}} \times 4 \times f$;

4.2.2 组织样本:

(1) 以组织湿重进行计算: $\text{Fe}^{2+} \text{ 含量 } (\mu\text{mol/kg wet weight}) = C_{\text{sample}} \times f \div (m/V)$;

(2) 按蛋白浓度计算: $\text{亚铁离子} (\text{nmol/mg 蛋白}) = C_{\text{sample}} \times f \div C_{\text{pr}}$

注:

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数;

m: 组织湿重质量(g);

V: 样本提取液加入量(mL);

C_{pr}: 样本蛋白质浓度, mg/mL。

注意事项

1. 操作过程中, 样品与试剂等避免与铁器接触, 以防污染。
2. 建议使用新鲜样本。亚铁离子易被氧化, 样本放置时间较长或反复冻融会造成结果不准确。
3. 所测样本的值高于标准曲线的上限, 应稀释样品后重新测定。
4. 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。

5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

结果展示

典型标准曲线：

