



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

铁检测试剂盒(亚铁嗉微板法)

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。

源叶生物 铁检测试剂盒(亚铁嗉微板法)是采用比色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。

组成:

名称 \ 编号	R22186 100T	Storage
试剂(A): 铁标准(100 $\mu\text{g/ml}$)	1ml	4 $^{\circ}\text{C}$ 避光
试剂(B): 铁标准稀释液	2ml	RT
试剂(C): Fe Assay Buffer	25ml	4 $^{\circ}\text{C}$
试剂(D): 亚铁嗉显色液	1ml	4 $^{\circ}\text{C}$ 避光
试剂(E): ddH ₂ O	10ml	RT
使用说明书	1 份	



自备材料:

1、酶标仪、96 孔板

操作步骤(仅供参考):

1、(选做)制备样品:

①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。

④(选做)样品准备完毕后可以 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($100\mu\text{g}/\text{ml}$), 按铁标准($100\mu\text{g}/\text{ml}$): 铁标准稀释液=1:49 的比例配制铁标准($2\mu\text{g}/\text{ml}$), 即为铁标准工作液; 4°C 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(μl)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH ₂ O	75	—	—
铁标准($2\mu\text{g}/\text{ml}$)	—	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, $A_{\text{血清空白}}$)。			
亚铁嗉显色液	8.4	8.4	8.4



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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

组织铁($\mu\text{mol/g}$)= $\{[A_{\text{测定}}-(A_{\text{血清空白}} \times 0.97)] / A_{\text{标准}}\} \times 35.8 / \text{待测样本蛋白浓度}(\text{g/L})$

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

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

$A_{\text{标准}}$ =标准孔的吸光度

单位换算：铁标准($2\mu\text{g/ml}$)=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：11~30 $\mu\text{mol/L}$ (60~170 $\mu\text{g/dl}$)

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

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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

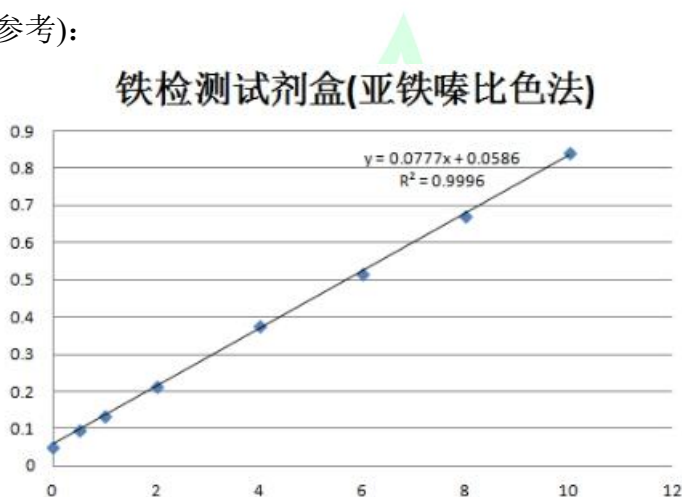
会慢慢加深，应在 1h 内比色完毕。

7、0.97 是体积校正值。

8、该法批内差异 $CV \leq 3.1\%$ ；批间差异 $CV \leq 2.6\%$ 。

有效期：12 个月有效；常温运输，4℃ 保存。

附录：标准曲线制作：源叶生物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)：



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，根据源叶生物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。