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(亚铁嗪比色法)

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(亚铁嗪比色法)是采用分光光度法以亚铁嗪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+}，后者与亚铁嗪生成紫红色化合物，通过分光光度计检测 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 140μmol/L 以下线性关系良好，甘油三脂≤3.39mmol/L，胆红素≤171μmol/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：

编号 / 名称	R22185 50T	Storage
试剂(A): 铁标准(100μg/ml)	1ml	4℃ 避光
试剂(B): 铁标准稀释液	10ml	RT
试剂(C): Fe Assay Buffer	60ml	4℃
试剂(D): 亚铁嗪显色液	3ml	4℃ 避光
试剂(E): ddH_2O	10ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料：

1、离心管或试管

2、分光光度计、比色杯

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℃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℃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 ddH_2O 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用 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(100μg/ml)，按铁标准(100μg/ml)：铁标准稀释液=1:49 的比例配制铁标准(2μg/ml)，即为铁标准工作液；4℃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干燥试管或者一次性无菌聚乙烯离心管，按照下表设置空白管、标准管、测定管，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管。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
ddH_2O	0.45	—	—
铁标准(2μg/ml)	—	0.45	—
待测样品	—	—	0.45
Fe Assay Buffer	1.2	1.2	1.2
混匀，于 562nm 处，以空白管调零，读取测定管的吸光度(即血清空白，$A_{血清空白}$)。			
亚铁嗪显色液	0.05	0.05	0.05

4、Fe 测定：混匀，室温静置 15min 或 37℃孵育 10min，以空白管调零，分光光度计 562nm 处检测标准管、测定管的吸光度(即为 $A_{标准}$，$A_{测定}$)，1h 内比色完毕。

计算：

血浆、血清铁(μmol/L)= { [$A_{测定}$−($A_{血清空白}$×0.97)] /$A_{标准}$}×35.8

组织铁(μmol/g)= { [$A_{测定}$−($A_{血清空白}$×0.97)] /$A_{标准}$}×35.8/待测样本蛋白浓度(g/L)

式中：$A_{测定}$=测定管加入亚铁嗪显色液后测得的吸光度

$A_{血清空白}$=测定管未加入亚铁嗪显色液前测得的吸光度

$A_{标准}$=标准管的吸光度

单位换算：铁标准(2μg/ml)=铁标准(35.8μmol/L)

μg/dl=μmol/L/0.179　μmol/L=0.179*μg/dl=17.9*μg/ml

参考区间：

成年健康人血清铁：男性：11~30μmol/L(60~170μg/dl)

女性：9~27μmol/L(50~150μg/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。

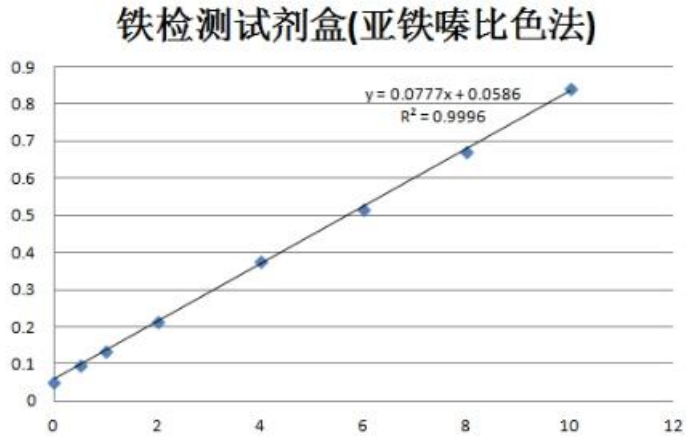
6、标准品呈色 24h 稳定，血清呈色 30min 内稳定，随着时间的延长，颜色会慢慢加深，应在 1h 内比色完毕。

7、0.97 是体积校正值。

8、该法批内差异 CV≤3.1%；批间差异 CV≤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、10μg/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 0.1μg/ml 以下，40μg/ml 以上，标准曲线会有偏差。