

## 细胞铁含量检测试剂盒（微量法）

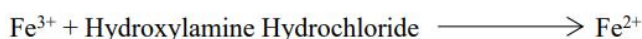
产品货号：BA2233

产品规格：100T/96S

### 产品简介：

铁元素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。

盐酸羟胺将样本中的 $Fe^{3+}$ 还原成 $Fe^{2+}$ ， $Fe^{2+}$ 在弱酸条件下与邻菲罗啉形成橙红色配合物，在510nm处有吸收峰，测定该波长吸光度即可计算铁含量。



**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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8°C
试剂一	液体5mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体15mL×1瓶	2-8°C
试剂三	液体2.5mL×1瓶	2-8°C
标准液	液体1mL×1支	2-8°C

溶液的配制：

1. 标准液：1 $\mu$ mol/mL  $Fe^{3+}$ 标准液，临用前取100 $\mu$ L 1 $\mu$ mol/mL  $Fe^{3+}$ 标准液，加入100 $\mu$ L蒸馏水，充分混匀，配制成为0.5 $\mu$ mol/mL标准液使用，现用现配。（实验中每管需要20 $\mu$ L，为减小实验误差，故配制大体积。）

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、可调式移液器、超声破碎仪、微量玻璃比色皿/96孔板、蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

按照细胞数量（ $10^4$ 个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入0.5mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率200W，超声3秒，间隔7秒，重复30次），于4°C，8000g离心10min，取上清待测。

若样本为真菌、细菌等有细胞壁的微生物可以适当延长超声时间。

#### 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min，波长调至510nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 在1.5mLEP管/96孔板按下表步骤加样：

试剂名称（ $\mu$ L）	测定管	空白管	标准管
样本	20	-	-
蒸馏水	-	20	-
标准溶液	-	-	20
试剂一	40	40	40



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂二	120	120	120
试剂三	20	20	20
充分混匀, 25℃静置显色 10min, 于微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 510nm 处吸光值, 分别记为 A 测定、A 空白和 A 标准, 计算 $\Delta A$ 测定=A 测定-A 空白, $\Delta A$ 标准=A 标准-A 空白。空白管和标准管只需做 1-2 次。			

### 三、细胞铁含量计算

#### 1. 按细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{细胞铁含量 (ng/10}^4\text{cell)} &= (\text{C 标准液} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \times 10^3 \times 55.845 \div 500 \\ &= 27.922 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \end{aligned}$$

#### 2. 按蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{细胞铁含量 (ng/mg prot)} &= (\text{C 标准液} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \times 10^3 \times 55.845 \div (\text{Cpr} \times V \text{ 提取}) \\ &= 27922.5 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

C 标准液: 0.5 $\mu$ mol/mL Fe<sup>3+</sup>标准液; V 提取: 加入提取液体积, 0.5mL; 10<sup>3</sup>: 单位换算系数, 1 $\mu$ mol=10<sup>3</sup>nmol; 55.845: Fe 的相对原子质量, 55.845ng/nmol; 500: 细胞数目, 500 万; Cpr: 蛋白质浓度, mg/mL。

#### 注意事项:

- 如果  $\Delta A$  测定 < 0.01, 可适当加大样本量后重新测定; 如果测定管吸光值大于 0.8, 建议将样本用蒸馏水适当稀释后进行测定。注意同步修改计算公式。
- 如果按蛋白浓度计算细胞铁含量, 需自行测定样本上清蛋白浓度。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com