

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 μ 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 μ mol/mL Standard，按照下表所示，进一步稀释成标准品：

序号	Standard体积 (μ L)	ReagentII体积 (μ L)	浓度 (nmol/mL)
Std.1	20 μ L of 10 μ mol/mL Standard	1980	100
Std.2	375 μ L of Std.1(100nmol/mL)	125	75
Std.3	250 μ L of Std.1(100nmol/mL)	250	50
Std.4	150 μ L of Std.1(100nmol/mL)	350	30
Std.5	100 μ L of Std.1(100nmol/mL)	400	20
Std.6	50 μ L of Std.1(100nmol/mL)	450	10



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

Std.7	25 μ 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。

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 $^{\circ}$ C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 $^{\circ}$ C离心10min，取上清液，置冰上待测。
2. 血清（浆）等液体样本：取55 μ L样本，加入165 μ L 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 $^{\circ}$ C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. 酶标仪或可见光分光光度计预热30min以上，调节波长到593nm，可见光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 (μ L)	标准管 (μ L)	测定管 (μ L)
样本	0	0	200
Standard	0	200	0
Reagent II	200	0	0
Reagent I	100	100	100
充分混匀，37 $^{\circ}$ C孵育40min，流水冷却至室温，空白管和标准管取200 μ L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200 μ L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_{空白}，标准孔记为A_{标准}，测定孔记为A_{测定}。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



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

以标准溶液浓度为 x 轴， ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将 ΔA 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

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

(2) 按样本鲜重计算：

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

(3) 按样本体积计算：

$$\text{总铁离子}(\text{nmol}/\text{mL})=F \times x=4x$$

$V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.2mL； $V_{\text{样总}}$ ：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。

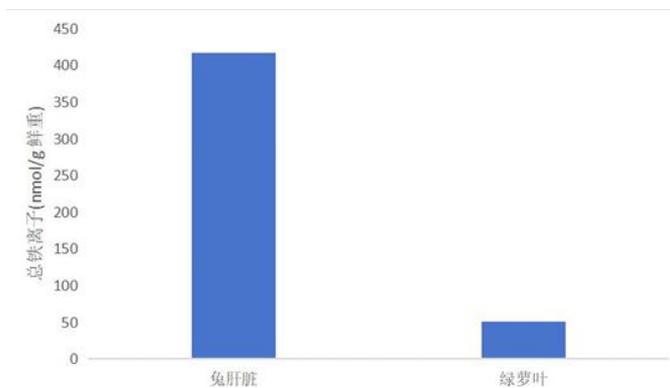


Figure 1. 本试剂盒测定兔肝脏和绿萝叶中总铁离子的含量



扫一扫 加微信

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>