

铁检测试剂盒(亚铁嗪微板法)

产品简介:

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。

铁检测试剂盒(亚铁嗪微板法)是采用比色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 μ mol/L 以下线性关系良好，甘油三酯 \leq 3.39mmol/L，胆红素 \leq 171 μ 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。

产品组成:

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

自备材料:

- 1、离心管或试管、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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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°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(单位：µl)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH ₂ O	75	—	—
铁标准(2µg/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， $A_{\text{血清空白}}$)。			
亚铁嗪显色液	8.5	8.5	8.5

- 4、Fe 检测：混匀，室温静置 15min 或 37°C 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(µmol/L)=[$A_{\text{测定}} - (A_{\text{血清空白}} \times 0.97)$] / $A_{\text{标准}}$ × 35.8

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

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

$A_{\text{血清空白}}$ = 测定孔未加入亚铁嗪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(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：

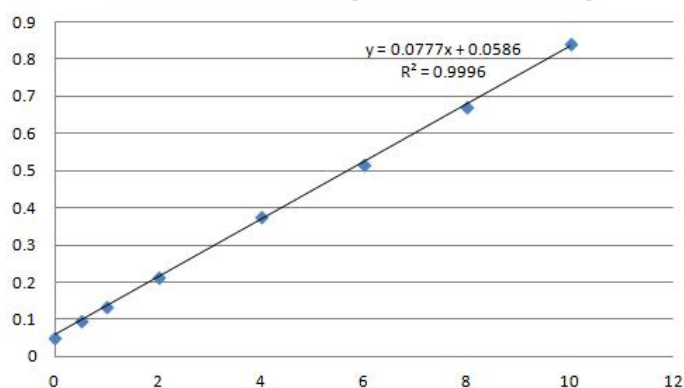
- 1、溶血样本对检测有干扰，尽量避免采用溶血样本。
- 2、如果样品浓度过高，应用蒸馏水稀释后重测，结果乘以稀释倍数。

- 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 $CV \leq 3.1\%$ ；批间差异 $CV \leq 2.6\%$ 。
- 9、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 10、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6 个月有效；室温运输，按要求保存。

附录：标准曲线制作： 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 $\mu\text{g}/\text{ml}$)进行吸光度的测定，其标准曲线如下(仅供参考)：

铁检测试剂盒(亚铁嗉比色法)



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，根据测定经验显示铁标准在 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下，40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上，标准曲线会有偏差。