

## 细胞铁含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC5315

规格: 100T/96S

**产品组成:** 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

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

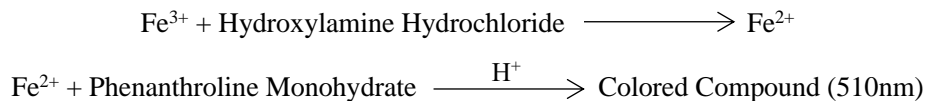
溶液的配制:

1. 标准液: 1 μmol/mL Fe<sup>3+</sup>标准液, 临用前取 100μL 1μmol/mL Fe<sup>3+</sup>标准液, 加入 100μL 蒸馏水, 充分混匀, 配制成 0.5μmol/mL 标准液使用, 现用现配。(实验中每管需要 20μL, 为减小实验误差, 故配制大体积。)

**产品说明:**

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<sup>3+</sup>还原成Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>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。

**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<sup>4</sup> 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 (μL)	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
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ΔA测定=A测定-A空白，ΔA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. 按细胞数目计算：

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

#### 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：0.5μmol/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，1μmol=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ΔA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。

#### 实验实例：

- 取 500 万细胞加入 0.5mL 提取液进行超声破碎提取，离心取上清后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 空白=0.100-0.048=0.052，ΔA 标准=A 标准-A 空白=0.408-0.048=0.360，按细胞数目计算含量得：  
细胞铁含量 (ng/10<sup>4</sup> cell) =27.922×ΔA 测定÷ΔA 标准 =4.033 ng/10<sup>4</sup> cell

#### 相关系列产品：

- BC1730/BC1735 血清铁浓度检测试剂盒
- BC2810/BC2815 血锌浓度检测试剂盒
- BC2860/BC2865 血清总铁结合能力 (TIBC) 检测试剂盒
- BC4350/BC4355 组织铁含量检测试剂盒