



## 细胞总铁含量检测试剂盒 48 样说明书

规格：微量法 50 管/48 样

编号：TW55490

### 注意

正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定。

### 测定意义

铁是人体必须的微量元素之一，也是血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素及其他酶系统的主要成分，在氧的运输和脂肪氧化过程中起着重要作用，铁元素缺乏易造成贫血、代谢紊乱并影响机体免疫功能。

### 测定原理

在酸性介质中铁从复合物中解离出来，再被还原剂还原成二价铁，并与亚铁嗪生成紫红色化合物，该有色物质在 562nm 处有特征吸收峰，进而计算得出总铁含量。

### 自备仪器和用品

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

### 试剂清单

试剂名称	规格	数目	贮藏	
试剂一	液体 15mL	x1	4°C	
试剂二	液体 11.5mL	x1	4°C, 避光	
试剂三	粉剂	x1	4°C, 避光	
试剂四	液体 2mL	x1	4°C, 避光	



标准品储备液	液体 1mL	x1	4°C, 避光	1mmol/L 铁标准溶液
--------	--------	----	---------	---------------

## 样品提取 (按照步骤依次操作)

### 一、组织样本

- 1、先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 2、取约  $1 \times 10^6$  细胞加入 0.2mL 试剂一，混匀后放置在冰盒上裂解 10min；
- 3、然后离心 10min (12000rpm 4°C)，取上清，置冰上待测。

## 实验准备

- 1、酶标仪预热 30min 以上，设定温度 25°C，设定波长到 450nm。
- 2、试剂二的制备：加入 20mL 试剂一涡旋振荡，至全部溶解备用。
- 3、所有试剂孵育至室温。

## 测定操作

- 1、酶标仪预热 30min 以上，设定波长至 562nm；
- 2、试剂三的制备[ 微量粉剂 使用前甩几下(或离心) 使粉体落入底部后 小心开盖。]：每支加入 1.2mL 蒸馏水溶解备用；
- 3、标准品的配制：将 标准品储备液 用 试剂四 稀释 50 倍，即为 20 $\mu$ mol/L 标准品；

试剂名称 ( $\mu$ L)	标准品 (500 $\mu$ L)
标准品储备液	10
试剂四	490
混匀，即为标准品	

- 4、所有试剂解冻至室温；



## 测定操作

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (只做一管)	标准管 (只做一管)
样本	40	-	-
蒸馏水	-	40	-
标准品	-	-	40
试剂二	150	150	150
试剂三	20	20	20
加入 96 孔板中，充分混匀，室温放置 15min 于 562nm 测定吸光值 A			

## 结果计算

### (1)按细胞数量计算:

$$\text{细胞铁含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) = [(A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times C] \div (N \div V \times 1) \times D$$

$$= 4 \times (\Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标}) \div N \times D$$

### (2)按照蛋白浓度计算:

$$\text{细胞铁含量}(\text{nmol}/\text{mg prot}) = [(A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times C] \div (\text{Cpr} \times 1) \times D$$

$$= 20 \times (\Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标}) \div \text{Cpr} \times D$$

C 标准: 铁标品浓度, 20μmol/L;

V: 细胞处理时试剂一加入的量, 0.2mL;

N: 加入细胞数量, 100 万 cell;

D: 额外稀释倍数, 未稀释即为 1

1: umol/L 到 nmol/mL 换算系数

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL



## 预实验的意义

### **比色法检测试剂盒预实验非常重要**

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测，以免造成试剂盒和样本的浪费（比如低表达处理的样本）；
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程，尤其是初次使用生化试剂盒测定；
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适；
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题，以便于及时作出调整；
- 5、通过 3 - 5 组预实验，判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。