



细胞亚铁含量检测试剂盒 96 样说明书

规格：微量法 96 样

检测波长：562nm

编号：TW55491

检测原理：亚铁嗉比色法

注意

- 1、正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定；
- 2、为了您的安全和健康，请佩戴好防护用具。

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

Fe^{2+} 与亚铁嗉生成紫红色化合物，该有色物质在 562nm 处有特征吸收峰，进而计算得出亚铁含量。

需自备的仪器和用品

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、低温离心机、烘箱、震荡仪、冰、蒸馏水。

试剂清单

试剂名称	规格	数目	贮藏	备注
裂解液	液体 25mL	x1	4℃	
试剂一	粉剂	x2	4℃,避光	
试剂二	液体 20mL	x1	4℃	



试剂三	液体 100mL	x2	4℃	
标准品(100X)	液体 1mL	x1	4℃,避光	9mmol/L Fe^{2+} 标准溶液

样本处理（按照步骤依次操作）

一、细胞样本

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

注意

- 1、建议样本处理后立刻用于检测，不建议放置超过 2 小时。

实验准备

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 562nm；
- 2、试剂一的制备：管中加入 1.6mL 蒸馏水溶解备用；

(用不完的试剂 4℃ 避光保存，建议 2 周内用完)

(试剂一 为微量粉剂，开盖前甩下或离心 使粉剂落入底部后小心开盖)
- 3、标准品的配制：将标准品(100X)用试剂二稀释 100 倍(1:99)，避光放置，即为标准品(90 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$)，待用；

(建议现用现配；也可根据自身实验需求调整标准品浓度)

实验准备

- 1、在 96 孔板中依次操作

试剂名称 (μL)	测定管	样本对照管(选做)	标准管(只做一管)	空白管(只做一管)
样本待测液	40	40	-	-
标准品	-	-	40	-



蒸馏水	-	-	-	40
试剂三	150	150	150	150
试剂一	20	-	20	20
蒸馏水	-	20	-	-
混匀，室温放置 5min，于 562nm 测定吸光值 $\Delta A_{\text{样}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 或 $\Delta A_{\text{样}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$				

结果计算

(1)按照细胞/细菌数量计算

细胞亚铁含量($\text{nmol}/10^4 \text{ cell}$) = $[(\Delta A_{\text{样}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{标}}) \times C] \div (N \div V_{\text{提}} \times 1) \times D$

$= 18 \times (\Delta A_{\text{样}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div N \times D$

N: 细菌/细胞数量，万个；

1: $\mu\text{mol/L}$ 到 nmol/mL 换算系数；

V 提: 样本处理时提取液用量，0.2mL；

(2)按照蛋白浓度计算

细胞亚铁含量($\text{nmol}/\text{mg prot}$) = $[(\Delta A_{\text{样}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{标}}) \times C] \div (C_{\text{pr}} \times 1) \times D$

$= 90 \times (\Delta A_{\text{样}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div C_{\text{pr}} \times D$

V 样: 测定操作中样本待测液加样量，0.04mL； Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL

V 标: 测定操作中标准品加样量，0.04mL； 1: $\mu\text{mol/L}$ 到 nmol/mL 换算系数

C: 标准品浓度，90 $\mu\text{mol/L}$ ；

D: 额外稀释倍数，未稀释即为 1；

附 1：标准曲线的绘制（选做）

1、将标准品(100X)(9mmol/L) 使用试剂二稀释为 200、120、70、35、10 $\mu\text{mol/L}$ 待测；

(标准品稀释操作可参考【附 2】；也可根据自身实验需求调整标准品浓度)

2、依据以下测定步骤操作，根据结果绘制标准曲线



1)在 96 孔板中依次操作

试剂名称 (μL)	标准管	空白管 (只做一管)
标准品	40	-
试剂二	-	40
试剂三	150	150
试剂一	20	20
混匀，室温放置 5min，于 562nm 测定吸光值 $A_{\Delta A} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$		

3、以标准品浓度 (μmol/L) 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA ($\Delta A = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$) 为纵坐标 (y)，绘制拟合曲线，即可得到线性方程 $y=kx+b$;

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。

附 2：标准曲线的标准品稀释操作表

试剂名称 (μL)	标准品浓度(μmol/L)					
	900	200	120	70	35	10
标准品(9mmol/L)	50	-	-	-	-	-

