


CheKine™ 亚铁离子含量检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB1115

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	亚铁离子含量检测试剂盒（微量法）		
REF	货号：KTB1115	LOT	批号：见产品标签
	检测范围：1.56-100 nmol/mL		灵敏度：1.56 nmol/mL
	适用样本：动植物组织、血清（浆）或其他液体		
	保质期：4°C，避光保存 6 个月		

原理

铁是人体必需的微量元素之一，对于维持机体正常生理功能具有重要作用。亚铁离子是血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素及其他酶系统的重要组成成分，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。CheKine™ 亚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，Fe²⁺在酸性条件下与三吡啶基三嗪形成蓝色配合物，在 593 nm 处有吸收峰，通过测定该波长吸光度即可计算 Fe²⁺的含量。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4°C
Reagent I	10 mL	15 mL	4°C，避光保存
Reagent II	15 mL	30 mL	4°C，避光保存
Standard	Powder×2 vials	Powder×2 vials	4°C，避光保存

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

- 酶标仪或可见分光光度计（能测 593 nm 处的吸光度）
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、1.5 mL 离心管
- 恒温箱、制冰机、低温离心机
- 去离子水、氯仿
- 匀浆器或研钵（如果是组织样本）

试剂准备

Extraction Buffer: 即用型；使用前，平衡到室温。4°C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: 临用前配制；每瓶 Standard 加入 2040 μL Reagent II 充分溶解，即 10 $\mu\text{mol/mL}$ Fe^{2+} 标准品；现用现配。使用 10 $\mu\text{mol/mL}$ Fe^{2+} 标准品，按照下表所示，进一步稀释成标准品：

序号	Standard 体积 (μL)	Reagent II 体积 (μL)	浓度 (nmol/mL)
Std.1	10 μL of 10 $\mu\text{mol/mL}$ Standard	990	100
Std.2	400 μL of Std.1 (100 nmol/mL)	400	50
Std.3	400 μL of Std.2 (50 nmol/mL)	400	25
Std.4	400 μL of Std.3 (25 nmol/mL)	400	12.5
Std.5	400 μL of Std.4 (12.5 nmol/mL)	400	6.25
Std.6	400 μL of Std.5 (6.25 nmol/mL)	400	3.13
Std.7	400 μL of Std.6 (3.125 nmol/mL)	400	1.56
Blank	0	400	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。亚铁离子易被氧化，样本放置时间较长或反复冻融会造成结果不准确。

1. 组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，用匀浆器或研钵冰浴匀浆，10,000 g，4°C离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

2. 血清（浆）等液体样本：取 125 μL 样本，加入 125 μL Extraction Buffer 混合均匀（即稀释 2 倍），置冰上待测。如果样本浑浊，5,000 g，4°C离心 5 min，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 Abbkine 货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（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 4 h。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 593 nm，可见分光光度计用去离子水调零。

2. 操作表（下述操作在 1.5 mL EP 管中操作）：

试剂	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)
样本	0	0	200
Standard	0	200	0
Reagent II	200	0	0
Reagent I	100	100	100

充分混匀，37°C孵育 10 min，流水冷却至室温，空白管和标准管取 200 μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，记录 593 nm 处吸光值。测定管进行以下操作：

氯仿	0	0	100
----	---	---	-----

充分涡旋震荡 2 min, 10,000 g, 室温离心 5 min, 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 593 nm 处吸光值

3. 空白孔记为 $A_{\text{空白}}$, 标准孔记为 $A_{\text{标准}}$, 测定孔记为 $A_{\text{测定}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

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 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.01 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 0.6, 样本可用 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. 每次检测不要超过三个样本, 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

以标准溶液浓度为 x 轴, $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 y 轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程, 将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程得到 x (nmol/mL)。

2. 亚铁离子含量的计算:

(1) 按蛋白浓度计算

亚铁离子(nmol/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:

亚铁离子(nmol/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:

亚铁离子(nmol/mL) = $F \times x = 2x$

$V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, 0.2 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入 Extraction Buffer 体积, 1 mL; 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, 2。

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。

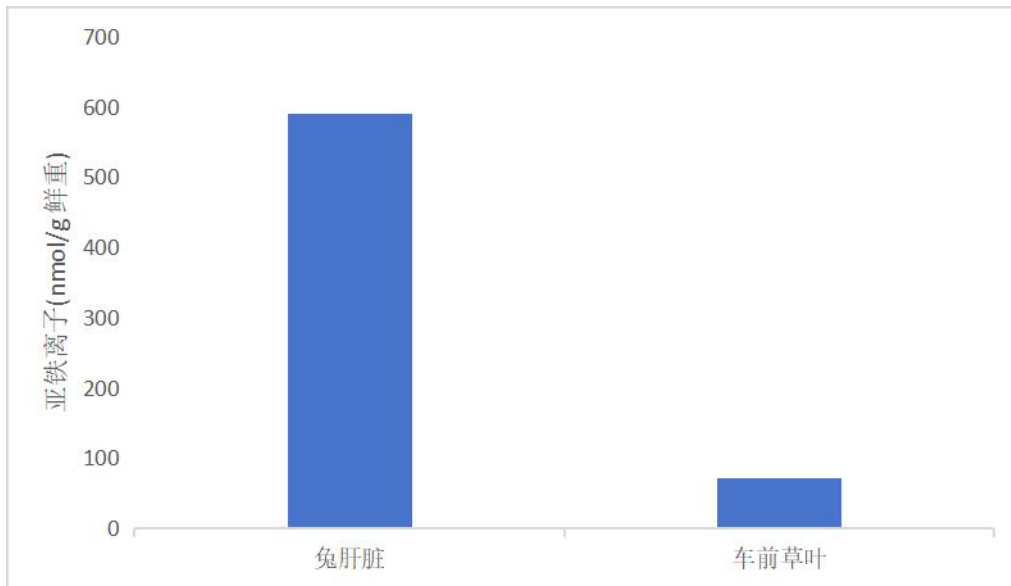


Figure 1. 本试剂盒测定兔肝脏和车前草叶中亚铁离子的含量

相关产品



Catalog No.	Product Name
KTB1410	CheKine™ 谷丙转氨酶 (ALT/GPT) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1420	CheKine™ 谷草转氨酶 (AST/GOT) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1430	CheKine™ 脯氨酸 (PRO) 含量检测试剂盒 (微量法)

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。