

亚铁含量(亚铁嗉比色法)检测试剂 盒微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号: JL-T1255

有效期: 6个月

规格: 48T(46S)/96T(94S)

保存温度: 2-8°C

实验原理：

亚铁即二价铁可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。适用于检测组织、血清等样品中的亚铁含量。

检测范围：0.1-10 μ g/mL 灵敏度：0.1 μ g/mL

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成：

| 试剂名称 | 规格 (48T/46S) | 规格 (96T/94S) | 保存条件 |
|------|--------------|--------------|----------|
| 提取液 | 50mL×1 瓶 | 100mL×1 瓶 | 2-8℃ |
| 试剂一 | 13mL×1 瓶 | 26mL×1 瓶 | 2-8℃ |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶 | 粉剂×2 瓶 | 2-8℃, 避光 |
| 试剂三 | 6mL×1 瓶 | 12mL×1 瓶 | 2-8℃ |
| 标准品 | 1mL×1 瓶 | 2mL×1 瓶 | 2-8℃, 避光 |

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.10-10 μ g/mL，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为提取液。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性
3. **组织样本**：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：5~10 的比例(例如称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液)，进行冰浴匀浆，然后 10000 g，4 $^{\circ}$ C 离心 10min，取上清置冰上待测。
4. **细菌/细胞样本**：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌/细胞数量 (10^4)：提取液 (mL) 为 500~1000：1 的比例(建议按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液)，超声波破碎细菌或细胞 (功率 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次)，10000 g，离心 10min，取上清待测。
5. **血清 (浆) 等液体样本**：澄清液体直接测定，若浑浊则离心后取上清液检测。
6. 如果组织样本提取后仍然不清澈，可在提取后样本上清加入试剂三沉淀，样本上清和试剂三比例为 1:1，混匀后离心取上清。但注意在计算结果乘 2，此步骤相当于将样本稀释 2 倍。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. 标准品的配制：标准品使用前用蒸馏水稀释 50 倍（即取 10 μ L 的标准品至 EP 管中，再加 490 μ L 的蒸馏水）制备成 2 μ g/mL 的标准品。
3. 试剂二工作液配制：用前甩几下或离心使粉末落入底部，再加入 1.2mL 的蒸馏水溶解备用。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 562nm。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入）：

| 试剂名称(μ L) | 空白管 | 标准管 | 测定管 | 对照管 (血清) |
|--------------------|-----|-----|-----|-------------|
| 样本 | | | 120 | 120 |
| 标准品 (2 μ g/mL) | | 120 | | |
| 蒸馏水 | 120 | | | 20 |
| 试剂一 | 260 | 260 | 260 | 260 |
| 试剂二 | 20 | 20 | 20 | |

充分混匀，置室温 15min 后，若浑浊则需 3000 g 离心 5min 后，取 200 μ L 上清液加入 96 孔板中，在波长 562nm 处读取吸光度 A。

注:

- (1) 血清样本如果离心后仍然不清澈或者有颜色需要设置样本对照管，用蒸馏水代替试剂二，否则样本检测值过高，计算时测定管吸光值减去对照管吸光值。

- (2) 若 $A_{\text{测定}}$ 大于 0.8, 可用蒸馏水对样本上清液进行稀释, 稀释倍数 N 代入计算公式。
- (3) 若 $A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 的差值低于 0.01, 可增加样本上清体积 V_2 (如由 120 μL 增至 200 μL 或更多, 则试剂一相应减少), 标准管和空白管保持不变, 则改变后的 V_2 代入公式重新计算。
- (4) 由于测血清样本时必须做对照组, 本试剂盒 48T 只能测 24 个样, 96T 测 50 个样。

实验结果结算：

1. 按照组织质量计算：

$$\begin{aligned}\text{亚铁含量}(\mu\text{g/g}) &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_2 \div V \times W) \times N \\ &= 2 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times N\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{亚铁含量}(\text{nmol/g}) &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_2 \div V \times W) \times 10^3 \\ &\div M_r \times N \\ &= 35.81 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times N\end{aligned}$$

2. 按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{亚铁含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_2 \div V \times f) \times \\ &N \\ &= 2 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div f \times N\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{亚铁含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_2 \div V \times f) \\ &\times 10^3 \div M_r \times N \\ &= 35.81 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div f \times N\end{aligned}$$

3. 按照液体体积计算：

$$\begin{aligned}\text{亚铁含量}(\mu\text{g/mL}) &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V_2 \times N \\ &= 2 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times N\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{亚铁含量}(\text{nmol/L}) &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V_2 \times 10^3 \div M_r \times N \\ &= 35.81 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times N\end{aligned}$$

4. 血清（加对照管样本）计算公式：

咨询电话：400-0066-400

网址：www.jonln.com

$$\text{亚铁含量}(\mu\text{g/mL})=(C_{\text{标准}}\times V_1)\times(A_{\text{测定}}-A_{\text{对照}})\div(A_{\text{标准}}-A_{\text{空白}})\div V_2\times N$$

$$=2\times(A_{\text{测定}}-A_{\text{对照}})\div(A_{\text{标准}}-A_{\text{空白}})\times N$$

$$\text{亚铁含量}(\mu\text{mol/L})=(C_{\text{标准}}\times V_1)\times(A_{\text{测定}}-A_{\text{对照}})\div(A_{\text{标准}}-A_{\text{空白}})\div V_2\times 10^3\div Mr\times N$$

$$=35.81\times(A_{\text{测定}}-A_{\text{对照}})\div(A_{\text{标准}}-A_{\text{空白}})\times N$$

注:

A_{标准}: 标准孔 OD 值

A_{空白}: 空白孔 OD 值

A_{测定}: 测定孔 OD 值

A_{对照}: 对照孔 OD 值

C_{标准}: 亚铁标准品的浓度, 2 $\mu\text{g/mL}$

V₁: 加入标准品体积, 0.12mL

N: 样本稀释倍数

V: 提取液体积, 1mL

Mr: 亚铁分子量, 55.847

W: 样本质量, g

V₂: 加入样本体积, 0.12mL

f: 细胞数量, 若取 500 万则把 500 代入公式计算

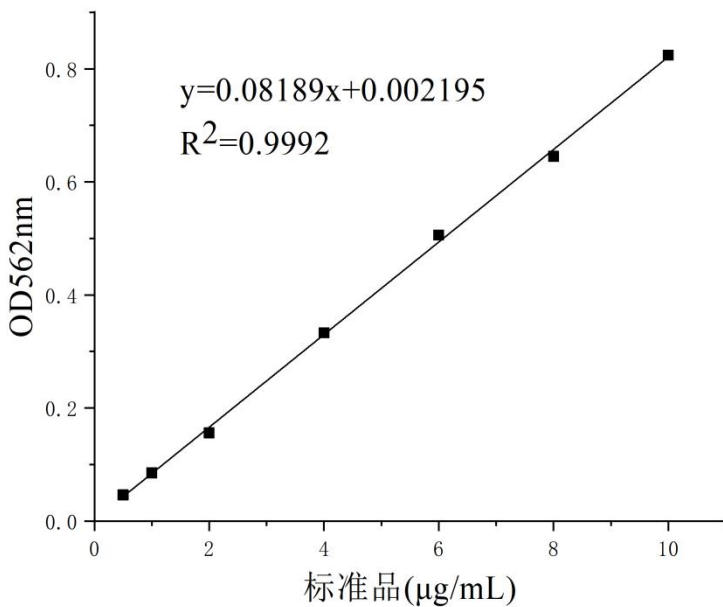
参考样本数据：

以下数据仅供参考：

| 样本类型 | 稀释倍数 | 参考值 |
|--------------|------|-----------------|
| 菠菜叶片 (10%匀浆) | 不稀释 | 10.9 μ g/g |
| 大鼠肝脏 (10%匀浆) | 不稀释 | 9.55 μ g/g |
| 小鼠肾脏 (10%匀浆) | 不稀释 | 9.57 μ g/g |
| 人血清 | 不稀释 | 0.07 μ g/mL |

参考曲线：

$y=0.08189x+0.002195, R^2=0.9992$, x 是标准品的浓度 ($\mu\text{g/mL}$), y 是 ΔA 。



参考标曲：标准曲线可以不做，按前面操作后用计算公式计算即可。

Note:

咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjlsw@163.com

网 址：www.jonln.com