天净沙系列

CAT#：7-C15438-31-0

低温运输，2-8℃保存

天净沙

亚铁离子含量测定试剂盒

Skygen Ferrous Lon Assay Kit

使用手册 V0.8

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品用于测定亚铁离子（Ferrous Lon，Fe2+，CAS 15438-31-0）含量。铁作为人体必需的微量元素，在维持正常生理功能中不可或缺。亚铁离子参与构成血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素及多种酶系统，承担氧运输和促进脂肪氧化等重要职责。缺铁可导致贫血、代谢障碍及免疫功能下降，而铁过量则被视为心脑血管疾病和神经退行性疾病等多种慢性病的诱发或加重因素。本方法依据的原理是：在酸性条件下，样品中的 Fe2+与三吡啶基三嗪生成蓝色络合物，该络合物在 593 nm 波长处具有特征吸收峰，通过测定该波长下的吸光度，即可定量计算 Fe2+的含量。本产品具有如下特点：

1. 即开即用，使用便捷，用户不需要优化条件，只需准备待测样本。
2. 提供 Fe2+阳性对照，便于在遇到问题时分析原因。
3. 适用于多种样本的测定。
4. 足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测
5. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
Fe2+测定液	7-C15438-31-0rx	60 mL	60 mL 本色瓶
Fe2+提取液	7-C15438-31-0a	120 mL	150 mL 本色瓶
Fe2+标准品	7-C15438-31-0sd	1 支	2.0 mL 本色管
使用手册	7-C15438-31-0sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，2-8℃保存，有效期一年。

自备试剂

待测样品，样本溶解液，超纯水，比色皿及与之匹配的分光光度计，96 孔板及与之匹配的分光光度计。

使用方法

一、首次使用本试剂盒时需配制下列溶液。

1. Fe2+标准品：10 mg FeSO4·7H2O，临用前加入 900 μL 蒸馏水和 20 μL 浓硫酸，充分混匀，配制成 40 mmoL/L（40000 μmoL/L）标准品，2-8℃可保存 2 周。

二、样本前处理

2. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL Fe2+提取液）进行冰浴匀浆。10000 ×g，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
3. 细菌/细胞：按照细菌/细胞数量（10^7个）：提取液体积（mL）为 1~5：1 的比例（建议 10^7 个细菌/细胞加入 1mL Fe2+提取液），冰浴超声波破碎细菌/细胞

（功率 200 W，超声 5 秒，间隔 5 秒，总时间 5 min）；然后 10000 ×g，4℃离心 10 min，取上清置于冰上待测。

4. 血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

三、步骤：

5. 可见分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 593 nm，蒸馏水调零。
6. 标准品的稀释：将 40 mmoL/L（40000 μmoL/L）标准品用蒸馏水进行稀释得到 100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625、0.78125 μmoL/L 的标准品各 2 mL，现配现用。
7. 在 1.5mL 离心管中加样：

成分	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	800 μL		
标准品		800 μL	
待测样本			800 μL
Fe2+测定液	400 μL	400 μL	400 μL

8. 充分混匀，37℃静置 10 min。测定管加入 200 μL 的氯仿。注：细胞/细菌样本或者其他无色匀浆液无需加氯仿处理，37℃反应完成后直接测定即可。
9. 测定管读取：充分涡旋震荡 5 min，之后 12000 ×g 常温离心 10 min，小心吸取上层无机相 800 μL 于 1 mL 玻璃比色皿，测定 593 nm 处吸光值，记为 A 测定，计算△A 测定=A 测定- A 空白。
10. 标准管和空白管直接测定：于 593 nm 处测定吸光值，记为 A 标准、A 空白，计算△A 标准=A 标准-A 空白。空白管和标准曲线只需测 1-2 次。

四、标准曲线

11. 绘制标准曲线：根据标准管的浓度（x，μmoL/L）和吸光度△A 标准（y，△A 标准），建立标准曲线。根据标准曲线，将△A测定（y，△A测定）带入公式计算样本浓度（x，μmoL/L）

五、计算

12. 按血清（浆）等液体体积计算：亚铁离子含量（μmoL/L）= x
13. 按样本蛋白浓度计算：亚铁离子含量（μmoL/mg prot） = x × 10^{-3} × V 提取/（Cpr × V 提取） = 0.001x/Cpr
14. 按样本质量计算：亚铁离子含量（μmoL/g 质量） = x × 10^{-3} × V 提取/W = 0.001x / W
15. 按细胞/细菌数量计算：亚铁离子含量（μmoL/10^7cell）= x × 10^{-3} × V 提

	取/N = 0.001x/N。 **V 提取**：加入提取液的体积，1mL；**Cpr**：蛋白质浓度，mg/mL；**W**：样本质量，g；**N**：细菌或细胞总数，以 10^7 计；**10^3**：单位换算系数，1 μmoL/L = 10^{-3}μmoL/mL **六、注意事项** 16. 如果△A 测定过低或测定管吸光值接近空白管，可以增加样本量后再进行测定；如果△A 测定大于 1.5，建议将样本用提取液适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。
关联产品	三价铁离子含量测定试剂盒