

细胞铁含量检测试剂盒(可见分光光度法)

产品货号: BA2233

产品规格: 100T/96S

产品简介:

铁元素是人体必须的微量元素之一,它是血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素及其他酶系统的主要成分,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。

盐酸羟胺将样本中的 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , Fe^{2+} 在弱酸条件下与邻菲罗啉形成橙红色配合物,在510nm处有吸收峰,测定该波长吸光度即可计算铁含量。

 Fe^{3+} + Hydroxylamine Hydrochloride \longrightarrow Fe^{2+} Fe^{2+} + Phenanthroline Monohydrate $\xrightarrow{H^+}$ Colored Compound (510nm)

注意:实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体30mL×1瓶	2-8°C
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体35mL×1瓶	2-8°C
试剂三	液体6mL×1瓶	2-8°C
标准液	液体1mL×1支	2-8°C

溶液的配制:

1. 标准液: $1\mu mol/mL Fe^{3+}$ 标准液,临用前取200 $\mu L 1\mu mol/mL Fe^{3+}$ 标准液,加入200 μL 蒸馏水,充分混匀,配制成0.5 $\mu mol/mL$ 标准液使用,现用现配。(实验中每管需要100 μL ,为减小实验误差,故配制大体积。)

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、可调式移液器、超声破碎仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理(可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

按照细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为 1000~2000:1 的比例(建议 500 万细胞加入 0.5mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞(功率 200W,超声 3 秒,间隔 7 秒,重复 30 次),于 4° C,8000g 离心 10min,取上清待测。

若样本为真菌、细菌等有细胞壁的微生物可以适当延长超声时间。

二、测定步骤

- 1. 可见分光光度计预热 30min,波长调至 510nm,蒸馏水调零。
- 2. 在 1.5mLEP 管按下表步骤加样:

试剂名称(μL)	测定管	空白管	标准管
样本	100	-	-
蒸馏水	-	100	-
标准溶液	-	-	100
试剂一	200	200	200



免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799 Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com



试剂二	600	600	600
试剂三	100	100	100

充分混匀,25℃静置显色 10min,于 1mL 玻璃比色皿中测定 510nm 处吸光值,分别记为 A 测定、A 空白和 A 标准,计算 \triangle A 测定=A 测定-A 空白, \triangle A 标准=A 标准-A 空白。空白管和标准管只需做 1-2 次。

三、细胞铁含量计算

1. 按细胞数量计算

细胞铁含量($ng/10^4cell$) = (C 标准液× ΔA 测定÷ ΔA 标准)×V 提取× 10^3 ×55.845÷500 =27.922× ΔA 测定÷ ΔA 标准

2. 按蛋白浓度计算

细胞铁含量(ng/mg prot) = (C 标准液× Δ A 测定÷ Δ A 标准)×V 提取× 10^3 ×55.845÷(Cpr×V 提取) = 27922.5× Δ A 测定÷ Δ A 标准÷Cpr

C 标准液: 0.5μmol/mL Fe³⁺标准液; V 提取: 加入提取液体积, 0.5mL; 10³: 单位换算系数, 1μmol=10³nmol; 55.845: Fe 的相对原子质量, 55.845ng/nmol; 500: 细胞数目, 500 万; Cpr: 蛋白质浓度, mg/mL。

注意事项:

- 1. 如果ΔA 测定<0.01,可适当加大样本量后重新测定;如果测定管吸光值大于1,建议将样本用蒸馏水适当稀释后进行测定。注意同步修改计算公式。
- 2. 如果按蛋白浓度计算细胞铁含量,需自行测定样本上清蛋白浓度。