

铁检测试剂盒(亚铁嗉微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

铁是人体必需微量元素，总含量约为 3270mg，铁分布较广，有 67.6%的铁作为血红蛋白分子的辅基分布于血红蛋白中，参与铁的运输；骨骼和肌红蛋白中各存在 2.59%和 4.15%，储存铁约占 25.37%血清中铁均以三价铁离子形式与转铁蛋白结合，因此测定血清铁时，首先需要 Fe³⁺与转铁蛋白分离。

铁检测试剂盒(亚铁嗉微板法)是采用分光光度法以亚铁嗉为底物进行铁的检测，在酸性介质中与转铁蛋白结合的血清铁从转铁蛋白中解离出来，其他样品中的铁在酸性介质环境下也会被解离，再被还原剂还原为 Fe²⁺，后者与亚铁嗉生成紫红色化合物，通过酶标仪检测 562nm 处吸光度，适用于检测血清、血浆、组织等样品中的铁含量；上述检测方法属于直接检测法，应设血清空白，纠正血清本身的色度，根据公式计算出铁含量，该检测试剂盒在 140 μmol/L 以下线性关系良好，甘油三酯≤3.39mmol/L，胆红素≤171 μmol/L，对本法基本无干扰。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	规格	保存条件
铁检测试剂盒(亚铁嗉微板法)	100T	4℃
试剂(A):铁标准(100 μg/ml)	1ml	4℃避光
试剂(B):铁标准稀释液	2ml	RT
试剂(C):FeAssayBuffer	25ml	4℃
试剂(D):亚铁嗉显色液	1ml	4℃避光
试剂(E):ddH ₂ O	10ml	RT
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

自备材料：

1、酶标仪、96 孔板

操作步骤(仅供参考)：

1、(选做)制备样品:

- ①浆、血清样品: 血浆、血清按照常规方法制备, -20℃冻存, 用于 Fe 的检测。
- ②细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织进行匀浆, 低速离心取上清, -20℃冻存, 用于 Fe 的检测。
- ③高浓度样品: 如果样品中含有较高浓度的 Fe, 可以使用 ddH₂O 稀释, 不宜使用普通蒸馏水稀释。
- ④(选做)样品准备完毕后可以 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度, 以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的 Fe 含量。

2、制备铁标准工作液: 取适量的铁标准(100 μg/ml), 按铁标准(100 μg/ml): 铁标准稀释液=1:49 的比例配制铁标准(2 μg/ml), 即为铁标准工作液; 4℃避光保存, 3 个月有效。

3、Fe 加样: 选用经稀盐酸处理及去离子水清洁的 96 孔板, 按照下表设置空白孔、标准孔、测定孔, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡; 如果样品中的铁离子含量过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定, 样品的检测最好能设置平行孔。

加入物(μl)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH ₂ O	75	—	—
铁标准(2 μg/ml)	—	75	—
待测样品	—	—	75
FeAssayBuffer	200	200	200
混匀, 于 562nm 处, 以空白孔调零, 读取测定孔的吸光度(即血清空白, A 血清空白)。			
亚铁嗪显色液	8.4	8.4	8.4

4、Fe 检测: 混匀, 室温静置 15min 或 37℃孵育 10min, 以空白孔调零, 酶标仪 562nm 处检测标准孔、测定孔的吸光度(即为 A 标准, A 测定), 1h 内比色完毕。

计算:

血浆、血清铁(μmol/L)=[(A 测定-(A 血清空白×0.97))/A 标准]×35.8

组织铁(μmol/g)=[(A 测定-(A 血清空白×0.97))/A 标准]×35.8/待测样本蛋白浓度(g/L)

式中: A 测定=测定孔加入亚铁嗪显色液后测得的吸光度

A 血清空白=测定孔未加入亚铁嗪显色液前测得的吸光度 A 标准=标准孔的吸光度

单位换算: 铁标准(2 μg/ml)=铁标准(35.8 μmol/L) μg/dl= μmol/L/0.179 μmol/L=0.179* μg/dl=17.9* μg/ml

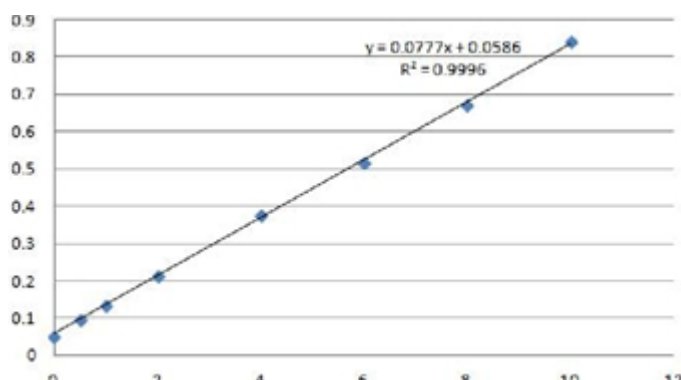
参考区间: 成年健康人血清铁: 男性: 11~30 μmol/L(60~170 μg/dl)

女性：9~27 $\mu\text{mol/L}$ (50~150 $\mu\text{g/dl}$)

注意事项：

- 1、溶血样本对检测有干扰，尽量避免采用溶血样本。
- 2、如果样品浓度过高，应用蒸馏水稀释后重测，结果乘以稀释倍数。
- 3、实验过程中用到的水，不可用普通的蒸馏水，尽量采用高纯度的去离子水。
- 4、玻璃器材需要 10% 的盐酸浸泡 24h，取出后用去离子水冲洗后才可以使使用。
- 5、避免与铁器接触，以防铁污染。
- 6、标准品呈色 24h 稳定，血清呈色 30min 内稳定，随着时间的延长，颜色会慢慢加深，应在 1h 内比色完毕。
- 7、0.97 是体积校正值。
- 8、该法批内差异 $\text{CV} \leq 3.1\%$ ；批间差异 $\text{CV} \leq 2.6\%$ 。

附录：标准曲线制作：在室温条件下按说明书操作，用分光光度计 562nm 对系列标准(0、0.5、1、2、4、6、8、10 $\mu\text{g/ml}$)进行吸光度的测定，其标准曲线如下(仅供参考)：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，标准曲线会有差异，该值仅供参考，根据测定经验显示铁标准在 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以下，40 $\mu\text{g/ml}$ 以上，标准曲线会有偏差。

