# CheKine™ 亚铁离子含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1115　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

| | | | |
|---|---|---|---|
| ≠ | **检测范围：**0.78-200 nmol/mL | | **灵敏度：**0.78 nmol/mL |
| | **适用样本：**动植物组织、血清（浆）或其他液体 | | |
| | **保质期：**4℃，保存 12 个月 | | |

## 01 背景与原理

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、代谢紊乱，并影响机体的免疫功能。

本试剂盒检测原理是 $Fe^{2+}$在酸性条件下与探针形成蓝色配合物，在 593 nm 处有吸收峰，通过测定该波长吸光度即可计算 $Fe^{2+}$的含量。

## 02 包装清单

| 试剂盒组分 | 规格 | | 储存要求 |
|---|---|---|---|
| | 48 T | 96 T | |
| **Extraction Buffer** | 60 mL | 120 mL | RT |
| **Reagent Ⅰ** | 6 mL | 12 mL | 4℃ |
| **Reagent Ⅱ** | 6 mL | 12 mL | 4℃ |
| **Standard** | Powder×2 vials | Powder×2 vials | 4℃ |

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

## 03 自备仪器与试剂

| 自备资源类型 | 资源名称 | 备注 |
| --- | --- | --- |
| **仪器** | 酶标仪 | 能测 593 nm 处的吸光度 |
| **耗材** | 96 孔酶标板 | 普通透明板 |
| **试剂** | 去离子水 | 标准品溶解与稀释用 |
| **其他** | 匀浆器（组织样本）、恒温箱、涡旋震荡仪、常温离心机、1.5 mL 离心管、可调节式移液枪及枪头 | 检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率 |

## 04 注意事项

- **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。**
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。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。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

## 05 实验流程

### 05-1 试剂准备

#### 05-1-1 试剂准备

| 试剂名称 | 试剂准备 | 注意事项 |
| --- | --- | --- |
| **Extraction Buffer** | 即用型 | 室温保存，初次使用前若为白色浑浊状态，可 37℃处理 60 min 至澄清状态 |
| **Reagent Ⅰ** | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃保存 |
| **Reagent Ⅱ** | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃保存 |
| **Standard** | 临用前配制；使用前加入 1 mL 去离子水充分溶解 | 20 μmol/mL 标准溶液；溶解后-20℃分装保存两周有效 |

#### 05-1-2 标准品配制

配制 50 nmol/mL 标准溶液，将 20 μmol/mL 标准品以去离子水稀释 400 倍，如取 5 μL 的 20 μmol/mL 标准品加入到 1995 μL 的去离子水中。稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

### 05-2 样本制备

**注意：建议使用新鲜样本。如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。为避免铁污染，所有的样本处理和转移操作避免使用铁质器具。**

- **动植物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，**常温匀浆**，12000 g，常温离心 10 min，取上清液待测。（建议动物组织匀浆上清用 Extraction Buffer 稀释 5 倍后检测，结果乘以稀释倍数）
- **血清（浆）等液体样本**：取 500 μL 样本，加入 500 μL Extraction Buffer 混合均匀（即稀释 2 倍），12000 g，常温离心 10 min，取上清液待测。

### 05-3 实验步骤

**1. 酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 593 nm。

**2. 检测体系配制**：在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作，空白管和标准管只需做 1-2 次。

| 试剂 | 空白管（μL） | 标准管（μL） | 测定管（μL） |
|---|---|---|---|
| **样本** | 0 | 0 | 100 |
| **50 nmol/mL Standard** | 0 | 100 | 0 |
| **去离子水** | 100 | 0 | 0 |
| **Reagent Ⅰ** | 100 | 100 | 100 |
| **Reagent Ⅱ** | 100 | 100 | 100 |
| **充分混匀，37℃孵育 30 min，12000 g，常温离心 5 min，吸取 200 μL 上清液至 96 孔板中，记录 593 nm 处吸光值** | | | |

**3. 吸光度检测：**空白孔记为 $A_{空白}$，标准孔记为 $A_{标准}$，测定孔记为 $A_{测定}$。

## 06 结果计算

### 06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn] > 进入“**技术中心**”> 查找“**在线计算器**”工具。

### 06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

**1. 数据处理**

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

**2. 样本亚铁离子含量计算**

- 按蛋白浓度计算

亚铁离子(nmol/mg prot)=$\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}\times C_{标准}\div Cpr\times n$=**$50\times\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}\div Cpr\times n$**

- 按样本鲜重计算

亚铁离子(nmol/g)=$\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}\times C_{标准}\div W\times V_{样总}\times n$=**$50\times\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}\div W\times n$**

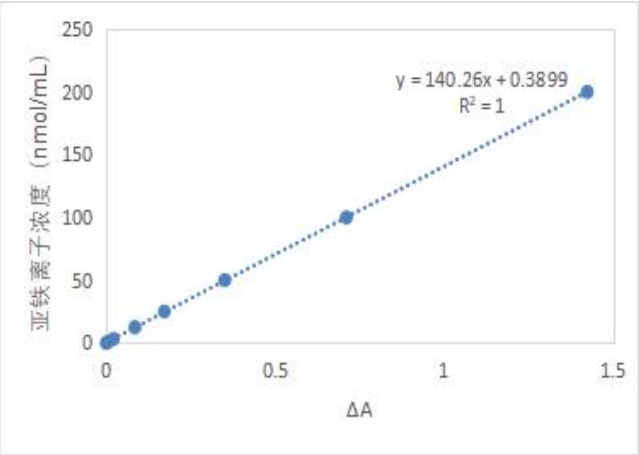
- 按样本体积计算

亚铁离子(nmol/mL)=$\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}\times C_{标准}\times F$=**$100\times\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}$**

$C_{标准}$：检测的标准品浓度，50 nmol/mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；$V_{样总}$：提取出的样本总体积，1 mL；n：组织样本稀释倍数；W：样本质量，g；F：液体样本稀释倍数，2。

## 07 结果展示

将 20 μmol/mL 标准品以去离子水梯度稀释为 0.78、3.12、12.5、25、50、100、200 nmol/mL，检测的亚铁离子标准曲线：y=140.26x+0.3899，$R^2$=1。




示例-1：取 0.1 g 兔肝脏，按上述步骤操作，测得$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}=0.151-0.035=0.116$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}=0.338-0.035=0.303$，按样本鲜重计算含量得：亚铁离子(nmol/g)$=50\times\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}\div W\times n=191.4$ nmol/g。

## 08 FAQ

- **检测得到的样本$\Delta A_{测定}$过高或者过低怎么办？**

如果样本的$\Delta A_{测定}>1.4$，需先检查样本检测过程中是否接触过铁质物品，若未接触过再用 Extraction Buffer 适当稀释后进行实验，结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。如果样本的$\Delta A_{测定}<0.005$，可适当提高样本量。

- **样本或检测过程中混入氧化剂或还原剂会有什么影响？**

如果样本或检测过程中混入氧化剂，可能会导致亚铁离子含量测值偏低。如果样本或检测过程中混入还原剂，可能会导致亚铁离子含量测值偏高。例如动物组织样本中会含有一定的抗氧化物质，导致可检出的总铁离子主要为亚铁形式，可尝试 5 倍稀释样本后进行检测。

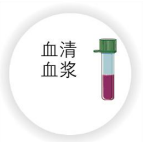
## 09 相关产品

| 货号 | 试剂盒名称 |
|---|---|
| **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） |

# CheKine™ 亚铁离子含量检测流程示意图

（Abbkine 货号 ： KTB1115）

## 样本处理




500 μL 加入500 μL Extraction Buffer 混合均匀



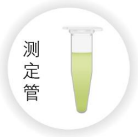

1 mL Extraction Buffer 常温匀浆（建议动物组织匀浆上清以 Extraction Buffer 稀释5倍后检测）



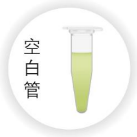
12000 g ， 常温离心10 min，取上清



## 体系配置




样本 100 μL
Reagent Ⅰ 100 μL
Reagent Ⅱ 100 μL



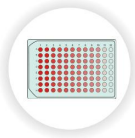

去离子水 100 μL
Reagent Ⅰ 100 μL
Reagent Ⅱ 100 μL




50 nmol/mL Standard 100 μL
Reagent Ⅰ 100 μL
Reagent Ⅱ 100 μL

充分混匀，37℃孵育30 min，
12000 g ， 常温离心5 min，吸取200 μL上清至96孔板

## 数据检测



测定593 nm处的吸光度
结果计算

V1.0