

细胞铁含量检测试剂盒说明书

微量法

货号：BC5315

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 2.5 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准液	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

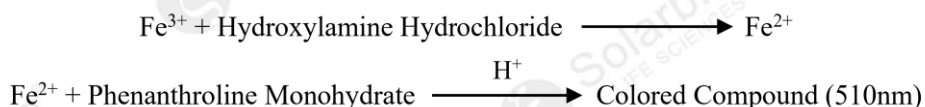
溶液的配制：

1. 标准液：1 μmol/mL Fe³⁺标准液，临用前取 100μL 1μmol/mL Fe³⁺标准液，加入 100μL 蒸馏水，充分混匀，配制成 0.5μmol/mL 标准液使用，现用现配。（实验中每管需要 20μL，为减小实验误差，故配制大体积。）

产品说明：

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。

盐酸羟胺将细胞中的Fe³⁺还原成Fe²⁺，Fe²⁺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。



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。

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（10⁴个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 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℃，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/酶标仪预热30min，波长调至510nm，分光光度计蒸馏水调零。

2. 在1.5mLEP管/96孔板按下表步骤加样：

试剂名称（μL）	测定管	空白管	标准管
----------	-----	-----	-----





样本	20	-	-
蒸馏水	-	20	-
标准溶液	-	-	20
试剂一	40	40	40
试剂二	120	120	120
试剂三	20	20	20

充分混匀，25℃静置显色10min，于微量玻璃比色皿/96孔板中测定510nm处吸光值，分别记为A测定、A空白和A标准，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白管和标准管只需做1-2次。

三、细胞铁含量计算

1. 按细胞数目计算：

$$\begin{aligned} \text{细胞铁含量 (ng/10}^4 \text{ cell)} &= (C_{\text{标准液}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{提取}} \times 10^3 \times 55.845 \div 500 \\ &= 27.922 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \end{aligned}$$

2. 按蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{细胞铁含量 (ng/mg prot)} &= (C_{\text{标准液}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{提取}} \times 10^3 \times 55.845 \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) \\ &= 27922.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

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：

- 如果 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.01$ ，可适当加大样本量后重新测定；如果测定管吸光值大于0.8，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。
- 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。

实验实例：

- 取 500 万细胞加入 0.5mL 提取液进行超声破碎提取，离心取上清后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.100 - 0.048 = 0.052$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.408 - 0.048 = 0.360$ ，按细胞数目计算含量得：
细胞铁含量 (ng/10⁴ cell) = 27.922 × $\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$ = 4.033 ng/10⁴ cell

相关发表文献：

- Cao W, Li Y, Zeng Z, Lei S. Terpinen-4-ol Induces Ferroptosis of Glioma Cells via Downregulating JUN Proto-Oncogene. *Molecules*. 2023 Jun 8;28(12):4643. doi: 10.3390/molecules28124643. PMID: 37375197; PMCID: PMC10301057.
- Li D, Tian L, Nan P, Zhang J, Zheng Y, Jia X, Gong Y, Wu Z. CerS6 triggered by high glucose activating the TLR4/IKKβ pathway regulates ferroptosis of LO2 cells through mitochondrial oxidative stress. *Mol Cell Endocrinol*. 2023 Jul 15;572:111969. doi: 10.1016/j.mce.2023.111969. Epub 2023 May 23. PMID: 37230220.
- Yang X, Yu Y, Li B, Chen Y, Feng M, Hu Y, Jiang W. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes protect podocytes from HBx-induced ferroptosis. *PeerJ*. 2023 May 11;11:e15314. doi: 10.7717/peerj.15314. PMID: 37193022; PMCID: PMC10183163.





- [4] Cheng S, Wang Y, Zhao Y, Wang N, Yan J, Jiang L, Cai W. Targeting GPX4-mediated Ferroptosis Alleviates Liver Steatosis in a Rat Model of Total Parenteral Nutrition. *J Pediatr Surg*. 2023 Oct 21:S0022-3468(23)00658-9. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2023.10.048. Epub ahead of print. PMID: 37968154.
- [5] Li Z, Li J, Liu X, Liu Y, Chen H, Sun X. β -eudesmol inhibits cell proliferation and induces ferroptosis via regulating MAPK signaling pathway in breast cancer. *Toxicon*. 2024 Jan;237:107529. doi: 10.1016/j.toxicon.2023.107529. Epub 2023 Nov 27. PMID: 38030095.
- [6] Chen Y, Yan W, Chen Y, Zhu J, Wang J, Jin H, Wu H, Zhang G, Zhan S, Xi Q, Shi T, Chen W. SLC6A14 facilitates epithelial cell ferroptosis via the C/EBP β -PAK6 axis in ulcerative colitis. *Cell Mol Life Sci*. 2022 Oct 22;79(11):563. doi: 10.1007/s00018-022-04594-7. PMID: 36272033.

相关系列产品:

- BC1730/BC1735 血清铁浓度检测试剂盒
BC2810/BC2815 血锌浓度检测试剂盒
BC2860/BC2865 血清总铁结合能力 (TIBC) 检测试剂盒
BC4350/BC4355 组织铁含量检测试剂盒

