

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ058

产品规格：96T

检测仪器：荧光酶标仪，流式细胞仪，荧光显微镜

Elabscience®细胞亚铁离子(Fe^{2+})荧光法测试盒

Cell Ferrous Iron (Fe^{2+}) Fluorometric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测细胞中亚铁离子(Fe^{2+})的水平。

检测原理

研究证实铁是生物体内量最多的过渡金属元素，其参与多种生理活动。近几年，细胞内的游离铁离子由于具有很高的反应性，和细胞损伤、死亡有一定的关联而得到了越来越多的关注。在细胞内游离铁离子以稳定的 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 形式存在。从细胞内的还原环境、金属转运体及 Fe^{2+} 的水溶性考虑，因此揭示细胞内 Fe^{2+} 的行为比 Fe^{3+} 更重要。

本试剂盒提供一种荧光探针可以和 Fe^{2+} 特异性结合，探针可以很好的进入到细胞内部，适用于活细胞内 Fe^{2+} 的检测。当探针与 Fe^{2+} 反应后，可以生成一种不可逆的橙色(红色)荧光产物(激发波长：542 nm，发射波长：575 nm)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液(Buffer)	50 mL×2 瓶	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	2 mmol/L 探针 (2 mmol/L Probe)	0.15 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	1 板	无要求
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。
对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：荧光酶标仪、流式细胞仪或荧光显微镜

试剂准备

① 各试剂平衡至室温，试剂二可分装后-20℃避光保存，避免反复冻融。

② 试剂一工作液的配制：

按照试剂一：双蒸水=1: 9的比例稀释得到试剂一工作液。(试剂一工作液可使用无血清培养基代替)

③ 试剂二工作液的配制：

试剂二使用试剂一工作液稀释到所需浓度得到试剂二工作液，推荐的浓度为2-10 $\mu\text{mol/L}$ 。现配现用，避光备用，2 h内使用有效。

实验关键点

① 若使用试剂一工作液进行细胞洗涤和孵育，需要在实验前配制足量的试剂一工作液。

② 试剂二避免反复冻融，使用前注意需要充分融解后使用，变成液体状态后离心直至液体都到管底部再开盖，试剂二工作液建议现用现配。

③ 生成的荧光物质容易淬灭，孵育完成后最好在2 h之内进行测定，防止荧光减弱。

操作步骤

操作过程：

检测仪器部分参数设置	
荧光酶标仪	Ex/Em = 542 nm/575 nm
流式细胞仪	Ex/Em = 542 nm/575 nm，可以用 PE 的参数设置检测。
荧光显微镜	Ex/Em = 542 nm/570-620 nm

悬浮细胞：

- ① 离心收集细胞，加入试剂一工作液洗涤两次。
- ② 每 10^6 个细胞加入 1 mL 试剂二工作液，37℃避光孵育 30-60 min。
- ③ $300 \times g$ ，离心 5 min，弃去上清。
- ④ 加入试剂一工作液洗涤细胞 2-3 次。
- ⑤ 用 0.2-0.5 mL 试剂一工作液重悬细胞后，使用荧光酶标仪或流式细胞仪进行检测观察。

贴壁细胞：

- ① 将贴壁细胞培养于无菌盖玻片上。
- ② 从培养基中移出盖玻片，吸除多余培养基。
- ③ 每 10^5 个细胞加入 1 mL 试剂二工作液，轻晃使其完全覆盖细胞，37℃避光孵育 30-60 min。
- ④ 吸去试剂二工作液，用试剂一工作液洗涤细胞 2-3 次，使用荧光显微镜进行检测观察。

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

