

## メタロアッセイ 鉄測定LS ティッシュ抽出液、ライセート、その他の試料のプロトコール例

### 基本プロトコール

- ① ホモジネート試料、クルード試料に終濃度0.1Mに相当する塩酸を添加  
ボルテックス、揺動攪拌により数十分間、鉄イオンを抽出  
(もし、pH<1の場合は水酸化ナトリウム等でpH>2となるよう中和して下さい)  
↓
- ② 遠心分離(4°C、8,000 rpm以上、10分)  
↓
- ③ 上清をアッセイ検体とする(マニュアルの通り測定)

- \*pHチェックは試験紙等の簡易なもので問題ありません。
- \*クルードな試料はできるだけ大量の緩衝液に溶解して下さい。  
(アッセイ検体中のターゲット濃度が測定レンジ内となるように希釈して下さい)
- \*アッセイ系においても激しく懸濁しデータへの影響が顕著な場合は下記、  
試料ブランク法を試行してください。
- \*本法はタンパク結合型の鉄に対して、酸による解離と、アスコルビン酸還元による解離の  
両作用を適用しているので抽出時のpHが2~6の範囲であってもデータへ大きな影響  
は与えないように設計されております。

### うまくいかない場合 試料ブランク検体をたて懸濁の影響を消去する方法

準備 : EDTA・2K(試薬特級)を精製水に溶解し0.1Mとする。

#### アッセイ(用量)

添加順		アッセイ検体			
		試薬ブランク	試料ブランク	鉄標準試料	試料
1	緩衝液R-AB (μL)	160	160	160	160
2	調製EDTA (μL)	3	3	-	-
	蒸留水 (μL)	15	-	-	-
	鉄標準液 (μL)	-	-	15	-
	試料 (μL)	-	15	-	15
↓	よく混合して下さい				
3	発色液 (μL)	75	75	75	75

室温で3~5分間反応させ750nm (720~780nm)の吸光度を測定

#### 濃度の算出

$$\text{濃度} (\mu\text{g/dL}) = \frac{A_{\text{Sample}} - A_{\text{S.Blank}}}{A_{\text{Std}} - A_{\text{Blank}}} \times 200$$

標準液濃度  
μg/dL

- A<sub>Sample</sub> : 試料の吸光度
- A<sub>S.Blank</sub> : 試料ブランクの吸光度 (EDTA)
- A<sub>Std</sub> : 標準試料の吸光度
- A<sub>Blank</sub> : 試薬ブランクの吸光度