

## 总铁结合力(TIBC)检测试剂盒(亚铁嗉微板法)

### 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 $Fe^{3+}$ 与转铁蛋白分离；总铁结合力(TIBC)是指血清中转铁蛋白能与铁结合的总量。

总铁结合力(TIBC)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总铁结合力的检测，是将过量的铁加入待测血清、血浆中，使铁与多余的转铁蛋白结合，游离铁被铁吸附剂吸附除去，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，再被还原剂还原为 $Fe^{2+}$ ，后者与亚铁嗉生成紫红色化合物，通过酶标仪检测 562nm 处吸光度值，适用于检测血清、血浆样品中的总铁含量，即为总铁结合力(TIBC)；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 $\mu$ mol/L 以下线性关系良好，甘油三酯 $\leq$ 3.39mmol/L，胆红素 $\leq$ 171 $\mu$ mol/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 \ 编号	ADS088TC0 100T	Storage
试剂(A): 铁标准(100 $\mu$ g/ml)	3ml	4 $^{\circ}$ C 避光
试剂(B): TIBC 铁标准稀释液	30ml	RT
试剂(C): TIBC Assay Buffer	25ml	4 $^{\circ}$ C
试剂(D): 亚铁嗉显色液	1ml	4 $^{\circ}$ C 避光
试剂(E): ddH <sub>2</sub> O	1ml	RT
试剂(F): 铁吸附剂	3g	RT
使用说明书	1 份	

### 自备材料

- 1.5ml 离心管或试管、酶标仪、96 孔板

### 操作步骤(仅供参考)

- 制备处理样品铁溶液和铁标准工作液：取适量的铁标准(100 $\mu$ g/ml)，按铁标准(100 $\mu$ g/ml)：TIBC 铁标准稀释液=1:9 的比例配制铁标准(10 $\mu$ g/ml)，作为处理样品铁溶液；同时按铁标准(100 $\mu$ g/ml)：TIBC 铁标准稀释液=1：49 的比例配制铁标准(2 $\mu$ g/ml)，

作为铁标准工作液；4℃避光保存，3 个月有效。

- 2、制备样品：血浆、血清按照常规方法制备，可以直接用于本试剂盒的测定，-20℃冻存，用于 TIBC 的检测，选用经稀盐酸处理及去离子水清洁的干燥有塞子的试管或者一次性无菌聚乙烯有盖子的离心管，加入血清或血浆 0.18ml、铁标准(10μg/ml)0.1ml、ddH<sub>2</sub>O 0.08ml，充分混匀，室温放置 10min，加入铁吸附剂 20mg，混匀，室温放置 10min，期间振荡 4 次，3000g 离心 10min，取上清液，待用。
- 3、TIBC 检测：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(单位: μl)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH <sub>2</sub> O	75	—	—
铁标准(2μg/ml)	—	75	—
待测样品	—	—	75
Fe Assay Buffer	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 <sub>血清空白</sub> )。			
亚铁嗪显色液	8.5	8.5	8.5

- 4、混匀，室温静置 15min 或 37℃孵育 10min，酶标仪 562nm 处检测，以空白孔调零，再次读取各孔吸光度，1h 内比色完毕。

### 计算：

血浆、血清总铁结合力(TIBC)(μmol/L)={ [A<sub>测定</sub> - (A<sub>血清空白</sub> × 0.97)] / A<sub>标准</sub> } × 71.6

式中：A<sub>测定</sub> = 测定孔加入亚铁嗪显色液后测得的吸光度

A<sub>血清空白</sub> = 测定孔未加入亚铁嗪显色液前测得的吸光度

A<sub>标准</sub> = 标准孔的吸光度

单位换算：铁标准(2μg/ml) = 铁标准(35.8μmol/L)

μg/dl = μmol/L / 0.179

血浆、血清未饱和铁结合力(UIBC)(μmol/L) = TIBC 含量 - 血清铁含量

### 参考区间

成年健康人血清铁：男性：11~30μmol/L(60~170μg/dl)

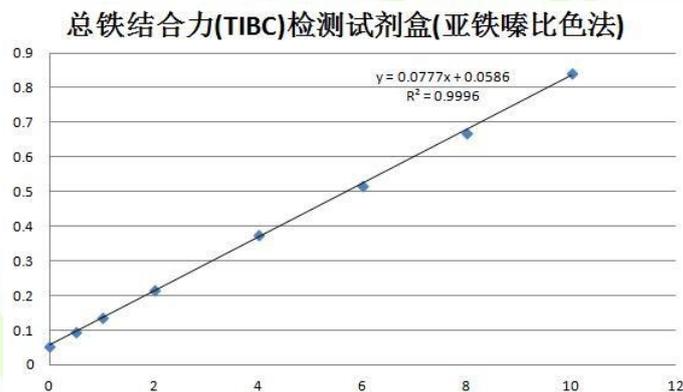
女性：9~27μmol/L(50~150μg/dl)

## 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⤵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  $CV \leq 3.1\%$ ；批间差异  $CV \leq 2.6\%$ 。
- 9、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

**有效期：**6个月；室温运输，按要求保存。

**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。