

## 血清总铁结合力（TIBC）检测试剂盒说明书

（货号：ADS-F-D027 分光法 48 样）

### 一、指标介绍：

血清内加入过量的铁，使血清中运铁蛋白全部与铁结合。再加入铁的吸附剂将多余的铁吸附掉。然后用测血清铁的方法测定铁的含量，此量称为总铁结合力（TIBC），由 TIBC 减去血清铁值，则称为未饱和铁结合力（UIBC）。

### 二、试剂盒组分与配制：

| 试剂组分 | 试剂规格        | 存放温度   | 注意事项   |
|------|-------------|--------|--|
| 试剂 A | 液体 16mL×1 瓶 | 4°C 保存 |  |
| 试剂 B | 粉体 1 瓶      | 室温     |  |
| 试剂一  | 液体 26mL×1 瓶 | 4°C 保存 |  |
| 试剂二  | 粉体 2 支      | 4°C 保存 | 每支：<br>1. 临用前 8000g 4°C 离 2min 使试剂落入管底；<br>2. 加 1.2ml 蒸馏水，溶解备用（保存周期与试剂盒有效期相同）。   |
| 试剂三  | 液体 2mL×1 支  | 4°C 保存 |  |
| 标准品  | 液体 1mL×1 支  | 4°C 保存 | 1. 临用前 8000g 4°C 离 2min 使试剂落入管底；<br>2. 用试剂三稀释 50 倍，即取 10 $\mu$ L 的标准品至新 EP 管中，再加 490 $\mu$ L 的试剂三混匀，制备成 2mg/L 即 35.82 $\mu$ mol/L 的铁标准品。 |

### 三、实验器材：

研钵（匀浆机）、天平、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）

### 四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

#### 1、样本提取：

取 300 $\mu$ L 的血清（浆）至一新 EP 管中，再加入 300 $\mu$ L 的试剂 A 混匀（即血清：试剂一=1:1），放置 10 分钟后，再加入约 50mg 的试剂 B 即铁吸附剂，混匀，室温放置 5 分钟，再混匀一次，共混匀四次，3000rpm 离心 10min 后，取上清液待测。

#### 2、检测步骤：

① 打开可见分光光度计，设置温度 25°C（若仪器无法控温，则等待仪器过自检程序即可），调节波长到 562nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温，在 EP 管中依次加入：

| 试剂组分（ $\mu$ L） | 测定管 | 标准管<br>（仅做一次） | 空白管<br>（仅做一次） |
|----------------|-----|---------------|---------------|
| 样本             | 240 |               |               |
| 标准品            |     | 240           |               |
| 蒸馏水            |     |               | 240           |
| 试剂一            | 520 | 520           | 520           |

| 试剂二  | 40 | 40 | 40 |
|--|----|----|----|
| 充分混匀，置室温 15min 后，若浑浊则需 3000rpm 离心 5min 后取全部上清液至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于波长 562nm 处读取各管吸光度 A。 |    |    |    |

【注】：若 A 测定管大于 0.8，可用蒸馏水对样本上清液进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

## 五、结果计算：

$$\text{TIBC}(\text{mg/L}) = C \text{ 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times 2 \times D$$

$$\text{TIBC}(\mu\text{mol/L}) = C \text{ 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times 2 \times D$$

$$\text{UIBC}(\mu\text{mol/L}) = \text{TIBC} - \text{血清铁}$$

$$\text{铁饱和度} = \text{血清铁} \div \text{TIBC} \times 100\%$$

C 标准---铁标品浓度，2mg/L 即 35.82  $\mu\text{mol/L}$ ；

V1---加入样本体积，0.12mL；

Mr---铁分子量，55.847。

2---血清的稀释倍数；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。