

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号： E-BC-K071-S

产品规格： 50 assays(48 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计 (520 nm)

Elabscience®总铁结合力(TIBC)比色法测试盒
Total Iron Binding Capacity (TIBC)
Colorimetric 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血清样本中的总铁结合力。

检测原理

血清内加入过量铁，使血清中运铁蛋白全部与铁结合，再加入铁吸附剂将多余的铁吸附掉，然后在酸性溶液和还原剂的作用下，使运铁蛋白中铁与蛋白分离，使血清中高铁还原成亚铁，后者与双吡啶结合成粉红色络合物，在一定范围内，铁离子多少与色泽呈正相关，测得的铁含量称为 TIBC，由 TIBC 减去血清铁值，则称为未饱和铁结合力 (UIBC)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格(Size) (50 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	100 mg/L 铁标准储备液(100 mg/L Iron Standard Stock Solution)	7 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	粉剂×2 支	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	粉剂×2 支	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 C (Chromogenic Agent C)	60 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	铁吸附剂 (Iron Absorbent)	50 mg×50 支	2-8℃ 保存 6 个月

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：紫外-可见分光光度计（520 nm）、恒温水浴锅（100℃）、涡旋混匀仪、离心机、磁力搅拌器、烧杯（50 mL、100 mL）。

耗材：枪头（1000 μL ，200 μL ，10 μL ）、EP管（5 mL，2 mL）、吸水纸、擦镜纸、磁力搅拌子。

试剂：双蒸水或去离子水、生理盐水（0.9% NaCl）。

试剂准备

① 检测前，试剂需平衡至室温。

② 10 mg/L 铁标准应用液的配制：

按试剂一：去离子水=1:9 的体积比稀释，混匀，2-8℃保存3天。

③ 1 mg/L 铁标准应用液的配制：

按 10 mg/L 铁标准应用液：去离子水=1:9 的体积比稀释，混匀，2-8℃保存3天。

④ 铁显色剂的配制：

取一支试剂二和一支试剂三，用 60 mL 试剂四搅拌溶解，2-8℃避光保存1个月。

样本准备

① 样本处理

血清样本：可直接测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，结合本试剂盒的线性范围（0.03-50 mg/L），选取最佳稀释倍数，进行正式批量实验。不同样本的稀释比例范围如下表（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	兔血清	不稀释
大鼠血清	不稀释	鸡血清	不稀释
猪血清	不稀释	食蟹猴血清	不稀释

注：稀释液为去离子水或生理盐水（0.9% NaCl）。

实验关键点

- ① 沸水浴后离心，上清必须澄清，否则会使实验结果偏大。
- ② 实验器具一定要干净，避免铁离子污染。
- ③ 测定管必须沸水浴，标准管和空白管可以不沸水浴。

操作步骤

- ① 待测样本上清的制备：取 1 mL 血清，加入 1 mL 10 mg/L 铁标准应用液，混匀后室温静置 10 min，再加入一支试剂五，混匀，室温静置 5 min 后再混匀（重复静置混匀操作 4 次），2300 × g，离心 10 min，取上清待测。
- ② 空白管：取 1.0 mL 去离子水加入到 5 mL EP 管中；
标准管：取 1.0 mL 1 mg/L 铁标准品应用液加入到 5 mL EP 管中；
测定管：取 1.0 mL 待测样本上清加入到 5 mL EP 管中。
- ③ 向步骤②各管中加入 2.0 mL 铁显色剂，涡旋混匀，沸水浴 5 min。（空白管及标准管可以不沸水浴，测定管必须沸水浴）
- ④ 流水冷却，2300 × g，离心 10 min。（若上清浑浊，取浑浊上清于新 EP 管中，再离心一次）
- ⑤ 取 1.0 mL 上清，520 nm 波长，0.5 cm 光径石英比色皿，去离子水调零，测定各管吸光度。

操作表

	空白管	标准管	测定管
去离子水 (mL)	1.0	--	--
1 mg/L 铁标准品应用液 (mL)	--	1.0	--
待测样本上清液 (mL)	--	--	1.0
铁显色剂 (mL)	2.0	2.0	2.0
混匀后，沸水浴 5 min，流水冷却，2300 × g，离心 10 min，取上清 1.0 mL，0.5 cm 光径石英比色皿，520 nm 波长，去离子水调零，测定各管 OD 值。			

结果计算

血清总铁结合力计算公式：

$$\text{TIBC} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c_1 \times f$$

$$\text{或} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{L}} \right) = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c_2 \times f$$

$$\text{UIBC} (\mu\text{mol/L}) = c_4 - c_3$$

$$i = c_3 \div c_4 \times 100 \%$$

注解：

ΔA_1 ：样本 OD 值-空白 OD 值

ΔA_2 ：标准 OD 值-空白 OD 值

c_1 ：标准品浓度（1 mg/L）

c_2 ：标准品浓度（17.91 $\mu\text{mol/L}$ ）

1 mg/L 铁标准浓度 = 1000 $\mu\text{g/L} \div$ 铁分子量（55.847） = 17.91 $\mu\text{mol/L}$

f ：样本加入检测体系前的稀释倍数

c_3 ：血清铁浓度（ $\mu\text{mol/L}$ ）

c_4 ：总铁结合力 TIBC（ $\mu\text{mol/L}$ ）

i ：铁饱和度%

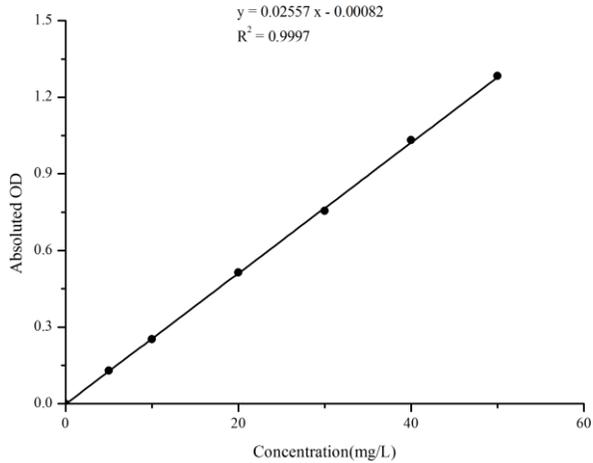
附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.03-50 mg/L	平均批间差	4.7 %
灵敏度	0.03 mg/L	平均批内差	3.4 %
平均回收率	100 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 标准曲线（数据仅供参考）：



附录2 实例分析

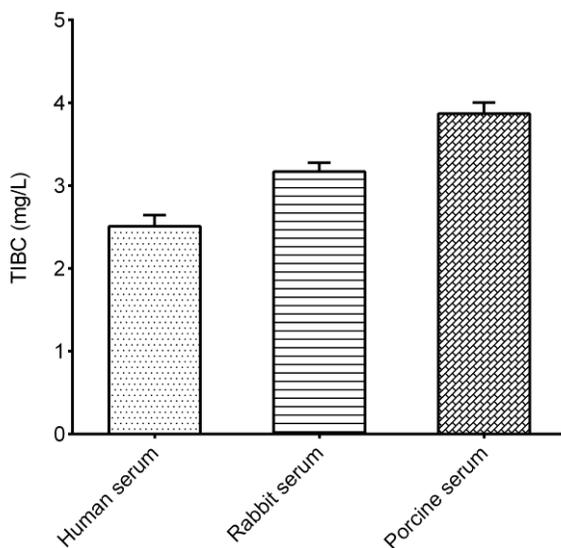
例如检测人血清(数据仅供参考):

取 1 mL 人血清, 按说明书操作, 结果如下:

空白管 OD 值为 0.002, 标准管 OD 值为 0.029, 测定管 OD 值为 0.069, 标准管浓度为 17.91 $\mu\text{mol/L}$, 血清铁浓度测得 21.963 $\mu\text{mol/L}$ 计算结果为:

$$\text{UIBC} \begin{matrix} (\mu\text{mol/L}) \end{matrix} = \frac{0.069-0.002}{0.029-0.002} \times 17.91 \times 1 - 21.963 = 22.98 \mu\text{mol/L}$$

按照说明书操作, 测定人血清(加样量 1.0 mL)、兔血清(加样量 1.0 mL)和猪血清(加样量 1.0 mL)中总铁结合力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果 >50 mg/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测
空白 OD 值很高	配制显色剂的容器被污染	将容器用 10% 盐酸浸泡 24 小时，用超声清洗仪清洗 10 分钟，再用去离子水洗净
样本测量结果偏大	上清液浑浊	取浑浊上清再次离心直至澄清

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。

附录4 客户发表文献

1. Zeng B, Huang Y, Chen S, et al. Dextran sodium sulfate potentiates NLRP3 inflammasome activation by modulating the KCa3.1 potassium channel in a mouse model of colitis[J]. *Cellular & Molecular Immunology*. IF:22.096
2. Ruan F,Zeng J,Yin H, et al. RNA m6A Modification Alteration by Black Phosphorus Quantum Dots Regulates Cell Ferroptosis: Implications for Nanotoxicological Assessment[J]. *Small Methods*, 2021, 5(3): e2001045 IF:12.13
3. Tian H, Zhou L, Wang Y, et al. A targeted nanomodulator capable of manipulating tumor microenvironment against metastasis. *J Control Release*. 2022; 348:590-600. IF:11.467
4. Pan C, Yan M H, Jin H B, et al. Chronic exposure to MC-LR increases the risks of microcytic anemia: Evidence from human and mice[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 288, 117966. IF:8.07
5. Gao W,Huang Z,Duan J, et al. Elesclomol induces copper-dependent ferroptosis in colorectal cancer cells via degradation of ATP7A[J]. *Molecular Oncology*. IF:6.603
6. Sun Z, Yue Z, Liu H, et al. Microbial-Assisted Wheat Iron Biofortification Using Endophytic *Bacillus altitudinis* WR10[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2021:476-. IF:6.576
7. Yy A, Sw A, Kc A, et al. Upregulation of autophagy in M2 macrophage by vitamin D alleviates crystalline silica-induced pulmonary inflammatory damage[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 225. IF:5.248
8. Carafa V, Russo R, Della Torre L, et al. The Pan-Sirtuin Inhibitor MC2494 Regulates Mitochondrial Function in a Leukemia Cell Line[J]. *Frontiers in Oncology*, 2020, 10: 820. IF:4.848
9. Su B, Li A, Deng M R, et al. Transcriptome Analysis Reveals a Promotion of Carotenoid Production by Copper Ions in Recombinant *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(2):233. IF:4.128
10. Rana M. Adel, Rania A. Lotfy, Atef S. Darwish, et al. Destructive effect of iron overload in brain tissue of albino rats: Ameliorative role of silver immobilized organo-modified casein nanocomposite as co-treating agent with Deferasirox[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2021 Sep;67:126794. IF:3.849
11. Gao Q, Li X, Su S, et al. Deletion of the c2515 and c2516 genes affects iron uptake and virulence of APEC O1 strain E516[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2021, 8. IF:3.412
12. ul Haq M E, Akash M S H, Rehman K, et al. Chronic exposure of bisphenol A impairs

- carbohydrate and lipid metabolism by altering corresponding enzymatic and metabolic pathways[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020: 103387. IF:3.292
13. Surendran V, Chiulli T, Manoharan S, et al. Acoustofluidic Micromixing Enabled Hybrid Integrated Colorimetric Sensing, for Rapid Point-of-Care Measurement of Salivary Potassium[J]. *Biosensors*, 2019, 9(2): 73. IF:3.24
 14. Elblehi SS, El-Sayed YS, Soliman MM, Shukry M. Date Palm Pollen Extract Avert Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy Fibrosis and Associated Oxidative/Nitrosative Stress, Inflammatory Cascade, and Apoptosis-Targeting Bax/Bcl-2 and Caspase-3 Signaling Pathways[J]. *Animals (Basel)*. 2021 Mar 20;11(3):886. doi: 10.3390/ani11030886. IF:2.752
 15. Mohammed M E, Abbas A M, Badi R M, et al. Effect of Acacia senegal on TGF- β 1 and vascular mediators in a rat model of diabetic nephropathy[J]. *Archives of physiology and biochemistry*, 2020: 1-11. IF:2.575
 16. Soo T, See S, Bhassu S. Potential muscle activity disturbance in *Panaeus monodon* during Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) infection: Inference through gene expression, calcium concentration, and MicroRNA - ScienceDirect[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2020, 177. IF:2.074

