

(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-K758-M

产品规格：48T(25 samples)/96T(50 samples)

检测仪器：酶标仪(510-530 nm)

Elabscience®总铁结合力（TIBC）与血清铁 比色法测试盒

Total Iron Binding Capacity (TIBC) and Serum Iron 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（浆）样本中总铁结合力和血清铁含量。

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 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	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)	2 mL×1 瓶	2 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	粉剂×1 支	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×1 支	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)	15 mL×1 瓶	15 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	铁吸附剂 (Iron Absorbent)	粉剂×50 支	粉剂×100 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	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，不同批次试剂盒中的试剂不能混用。

所需自备物品

仪器：酶标仪(510-530 nm，最佳检测波长 520 nm)、涡旋混匀仪、恒温水浴锅(100℃)、磁力搅拌器、离心机、烧杯(25 mL)。

耗材：枪头(1000 μL，200 μL，10 μL)、EP 管(1.5 mL)、磁力搅拌子。

试剂：双蒸水。

试剂准备

- ① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25℃。
- ② 铁显色剂的配制：
取一支试剂二和一支试剂三，用15 mL试剂四搅拌溶解，2-8℃可避光保存1个月。
- ③ 10 mg/L 铁标准品应用液配制：
取试剂一：双蒸水=1：9体积比进行配制混匀，2-8℃可避光保存12 h。
- ④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mg/L)	0	5	10	20	25	30	40	50
100 mg/L 标准品(μL)	0	10	20	40	50	60	80	100
双蒸水(μL)	200	190	180	160	150	140	120	100

样本准备

① 样本处理

血清（浆）：可直接测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择预期差异较大的2-3个样本，稀释成不同浓度进行预实验，结合检测范围：0.31-50 mg/L，不同样本稀释比例如下表(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：稀释液为双蒸水。

实验关键点

- ① 沸水浴后离心，上清液必须澄清。
- ② 实验器具一定要洗干净，双蒸水清洗 10 次以上，避免铁离子污染。
- ③ 铁显色剂配制时试剂二与试剂三比较难溶解，需提前配制。

操作步骤

标曲部分

- ① 标准孔：取 30 μL 不同浓度标准品，加入到对应的标准孔中。
- ② 向①中各孔加入 150 μL 铁显色剂。
- ③ 在酶标仪上振板 5 s，覆膜室温(25 $^{\circ}\text{C}$)静置 5 min，酶标仪 520 nm 处，测定各孔 OD 值。

样本部分

总铁结合力样本上清的制备：取 50 μL 血清，加入 50 μL 的 10 mg/L 铁标准品应用液，涡旋混匀 10 s 以上，室温静置 5 min，移取加入一支试剂五中，涡旋混匀 10 s 以上，室温(25 $^{\circ}\text{C}$)静置 5 min 后，3000 $\times$ g，离心 10 min，取上清待测。

血清铁样本上清的制备：取 50 μL 血清，加入 50 μL 双蒸水，移取加入一支试剂五中，涡旋混匀 10 s 以上，室温(25 $^{\circ}\text{C}$)静置 5 min 后，3000 $\times$ g，离心 10 min，取上清待测。

- ① 总铁结合力测定管：取 50 μL 总铁结合力样本上清到 1.5 mL EP 管中。
血清铁测定管：取 50 μL 血清铁样本上清到 1.5 mL EP 管中。
对照管：取 50 μL 双蒸水到 1.5 mL EP 管中。
- ② 向①中各管加入 250 μL 铁显色剂，涡旋混匀 3 s，沸水浴 5 min。
- ③ 流水冷却，10000 $\times$ 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)
- ④ 取 180 μL 上清到板孔中，酶标仪 520 nm 处，测定各孔 OD 值。

操作表

标曲操作表

	标准孔
不同浓度标准品(μL)	30
铁显色剂(μL)	150
在酶标仪上振板 5 s，覆膜室温静置 5 min，酶标仪 520 nm 处，测定各孔 OD 值。	

样本操作表

	对照管	总铁结合力测定管	血清铁测定管
双蒸水(μL)	50	--	--
总铁结合力样本上清(μL)	--	50	--
血清铁样本上清(μL)	--	--	50
铁显色剂(μL)	250	250	250
涡旋混匀 3 s，沸水浴 5 min，流水冷却，10000 × g，离心 10 min，取 180 μL 上清到板孔中，酶标仪 520 nm 处，测定各孔 OD 值。			

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清总铁结合力计算公式：

$$\text{TIBC} \text{ (mg/L)} = (\Delta A_1 - b) \div a \times f \times 2$$

$$\text{或 } \text{TIBC} \text{ (}\mu\text{mol/L)} = (\Delta A_1 - b) \div a \times f \times c_1 \times 2$$

血清铁计算公式：

$$\text{Fe} \text{ (mg/L)} = (\Delta A_2 - b) \div a \times f \times 2$$

$$\text{或 } \text{Fe} \text{ (}\mu\text{mol/L)} = (\Delta A_2 - b) \div a \times f \times c_1 \times 2$$

$$\text{UIBC (}\mu\text{mol/L)} = c_3 - c_2$$

$$i = c_2 \div c_3 \times 100 \%$$

注解：

a：标曲斜率

b：截距

y：标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：吸光度对应的浓度

ΔA_1 ：总铁结合力测定 OD 值-对照 OD 值

ΔA_2 ：血清铁测定 OD 值-对照 OD 值

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

2：血清样本处理时稀释倍数

c_1 ：17.91 $\mu\text{mol/L}$ (1 mg/L 铁标准品=17.91 $\mu\text{mol/L}$)

c_2 ：血清铁浓度， $\mu\text{mol/L}$

c_3 ：总铁结合力 TIBC， $\mu\text{mol/L}$

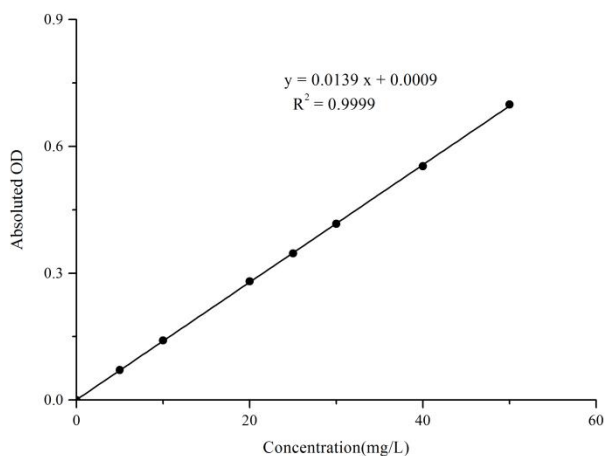
i：铁饱和度%

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.31-50 mg/L TIBC	平均批间差	2.3 %
灵敏度	0.14 mg/L TIBC	平均批内差	1.5 %
平均回收率	100 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

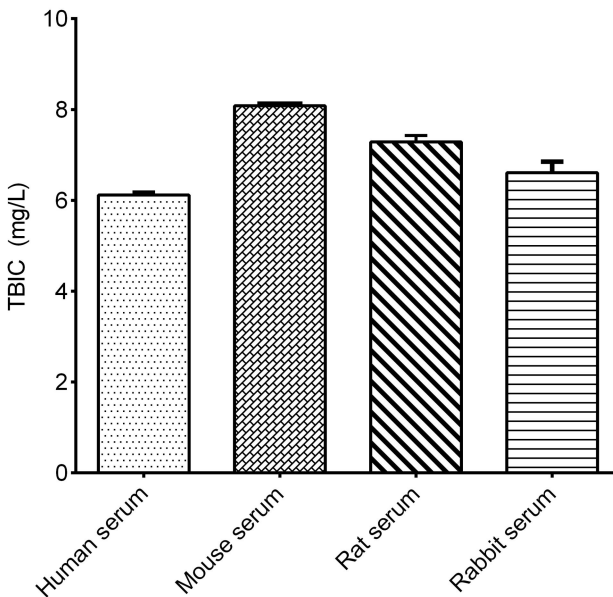
例：(数据仅供参考)

取100 μL 人血清样本,按照说明书操作,结果如下:TIBC的标准曲线: $y = 0.014x - 0.0009$,总铁结合力测定孔平均OD值为0.080,血清铁测定孔OD值为0.063对照孔平均OD值为0.038,计算结果为:

$$\text{TIBC (mg/L)} = (0.080 - 0.038 + 0.0009) \div 0.014 \times 2 = 6.18 \text{ mg/L}$$

$$\text{Fe (mg/L)} = (0.063 - 0.038 + 0.0009) \div 0.014 \times 2 = 3.7 \text{ mg/L}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量50 μL)、小鼠血清(加样量50 μL)、大鼠血清(加样量50 μL)和兔血清(加样量50 μL)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
样本显色低	沸水浴时间太短	保证充足的沸水浴时间
空白 OD 值高	配制显色剂的容器被污染	将容器用 10%的盐酸浸泡 24 h, 用超声清洗仪清洗 10 min, 再用去离子水洗净
对照 OD 值高	EP 管被污染(或同上)	更换新的 EP 管(或同上)
样本测量结果偏大	上清液浑浊	取浑浊上清液再次离心直至澄清
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

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 *Penaeus 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