

(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-K945-M

产品规格: 96T

检测仪器: 酶标仪(560-580 nm)

Elabscience®总铁结合力 (TIBC) 与血清铁 比色法测试盒 (直接法)

Total Iron Binding Capacity (TIBC) And Serum Iron Assay Kit (Direct Method)

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)样本中的总铁结合力(TIBC)和血清铁含量。

检测原理

血液中与转铁蛋白结合的铁量为血清铁(Serum Iron), 转铁蛋白所能结合铁的最大能力称为总铁结合力(Total Iron Binding Capacity, TIBC), 铁饱和度指血清铁与总铁结合力的百分比。

本试剂盒的检测原理如下: 样本加入过量铁, 检测总铁离子含量; 转铁蛋白与铁结合饱和状态下, 检测未结合铁离子含量; 通过总铁离子含量减去未结合铁离子含量得到样本的总铁结合力。样本不加铁, 检测转铁蛋白结合的铁和游离铁的总含量, 同时检测未与转铁蛋白结合的游离铁含量, 通过前者减去后者得到样本的血清铁含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格(Size) (96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	50 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	铁储备液 (Iron Stock Solution)	1 mL×1 支	-20°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	2.8 mL×1 瓶	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	解铁剂 (Iron Released Agent)	2.4 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	10 mmol/L 铁标准液 (10 mmol/L Iron Standard Solution)	1 mL×1 支	-20°C 保存 6 个月
	酶标板	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：酶标仪(560-580 nm，最佳检测波长 570 nm)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25℃)。

② 铁工作液的配制：

按试剂二：试剂一体积比=1：49配制，按需配制，现用现配，8 h内使用有效。

③ 1 mmol/L 标准品的配制：

按试剂五：试剂一体积比=1：9稀释成1 mmol/L标准品，现用现配，8 h内使用有效。

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(mmol/L)	0	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3	0.4	0.5
1 mmol/L 标准品(μL)	0	10	20	30	40	60	80	100
试剂一(μL)	200	190	180	170	160	140	120	100

样本准备

① 样本处理

血清(浆)样本：直接检测。

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，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1.446-500 $\mu\text{mol/L}$ ，请参考下表稀释(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	小鼠血清	不稀释
马血清	不稀释	猪血清	不稀释
鸡血清	不稀释	胎牛血清	不稀释

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

本试剂盒能检测使用肝素作为抗凝剂采集的血浆样本，不能检测使用乙二胺四乙酸盐类、草酸钠、柠檬酸钠或枸橼酸钠采集的血浆样品。

操作步骤

- ① 标准孔：取 50 μL 不同浓度的标准品加入相应的板孔中；
A 孔(未结合铁)、B 孔(总铁结合力和未结合铁)、C 孔(游离铁)、D 孔(转铁蛋白结合铁和游离铁)：取 50 μL 待测样本加入相应的板孔中。
- ② 标准孔、C 孔：加入 175 μL 试剂一；
D 孔：加入 125 μL 试剂一；
A、B 孔：加入 125 μL 铁工作液。
- ③ 混匀，37°C 孵育 10 min。
- ④ 向③中各孔加入 25 μL 试剂三。
- ⑤ 混匀，37°C 孵育 10 min。
- ⑥ A 孔：加入 50 μL 试剂一；
B、D 孔：加入 50 μL 试剂四。
- ⑦ 混匀，37°C 孵育 10 min，570 nm 测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	A 孔	B 孔	C 孔	D 孔
不同浓度的标准品(μL)	50	--	--	--	--
待测样本(μL)	--	50	50	50	50
试剂一(μL)	175	--	--	175	125
铁工作液(μL)	--	125	125	--	--
混匀，37°C 孵育 10 min					
试剂三(μL)	25	25	25	25	25
混匀，37°C 孵育 10 min					
试剂一(μL)	--	50	--	--	--
试剂四(μL)	--	--	50	--	50
混匀，37°C 孵育 10 min，570 nm 测定各孔 OD 值					

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清(浆)样本中总铁结合力、血清铁、铁饱和度计算公式:

$$\text{总铁结合力} \begin{matrix} (\mu\text{mol/L}) \end{matrix} = (\text{OD}_B - \text{OD}_A - b) \div a \times 1000^* \times f$$

$$\text{血清铁} \begin{matrix} (\mu\text{mol/L}) \end{matrix} = (\text{OD}_D - \text{OD}_C - b) \div a \times 1000^* \times f$$

$$\text{铁饱和度} = \frac{\text{血清铁}}{\text{总铁结合力}} \times 100\%$$

注解:

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

1000*: 1 mmol = 1000 μmol

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

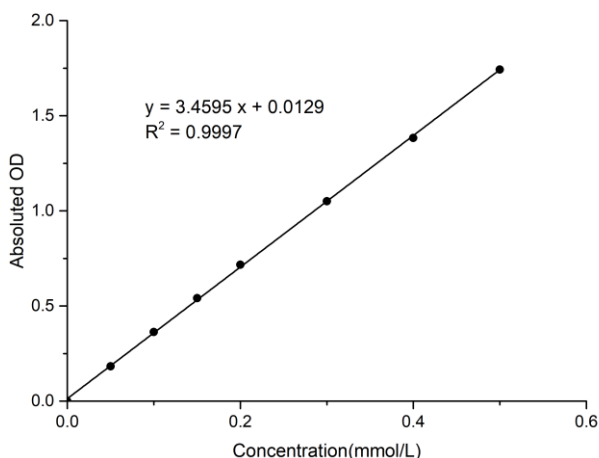
检测范围	1.446-500 $\mu\text{mol/L}$	批间差	2.1-2.7%
灵敏度	0.684 $\mu\text{mol/L}$	批内差	0.3-0.6%
稀释回收率	98-103%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量50 μL , 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3	0.4	0.5
OD 值	0.050	0.231	0.411	0.586	0.759	1.091	1.428	1.787
	0.045	0.230	0.409	0.591	0.769	1.106	1.433	1.793
平均 OD 值	0.048	0.231	0.410	0.589	0.764	1.099	1.431	1.790
绝对 OD 值	0.000	0.183	0.363	0.541	0.717	1.051	1.383	1.743

② 绘制标曲(如下图):



附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

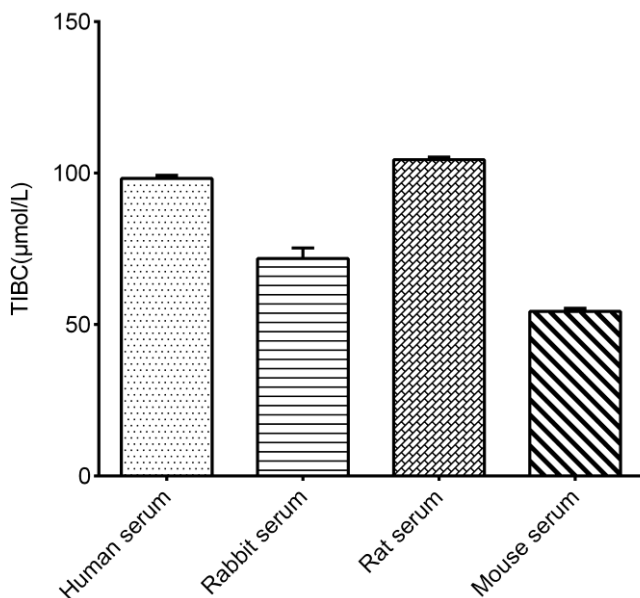
取 50 μL 人血清样本, 按操作表操作, 结果如下: 标准曲线: $y = 3.4595x + 0.0129$, A 孔 OD 值为 0.944, B 孔 OD 值 1.296, C 孔 OD 值为 0.113, D 孔 OD 值为 0.237, 计算结果为:

$$\text{总铁结合力}(\mu\text{mol/L}) = (1.296 - 0.944 - 0.0129) \div 3.4595 \times 1000 = 98.02 \mu\text{mol/L}$$

$$\text{血清铁}(\mu\text{mol/L}) = (0.237 - 0.113 - 0.0129) \div 3.4595 \times 1000 = 32.11 \mu\text{mol/L}$$

$$\text{铁饱和度} = 32.11 \div 98.02 \times 100\% = 33\%$$

按照说明书操作, 测定人血清(加样量 50 μL)、兔血清(加样量 50 μL)、大鼠血清(加样量 50 μL)、小鼠血清(加样量 50 μL)的总铁结合力(如下图):



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。

