

(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-M

产品规格: 48T(31 samples)/96T(79 samples)

检测仪器: 酶标仪(510-530 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×31 支	粉剂×79 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	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 μ L，200 μ L，10 μ L)、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室温。

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 ℃避光保存1个月。

③ 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(μ L)	0	10	20	40	50	60	80	100
双蒸水(μ L)	200	190	180	160	150	140	120	100

样本准备

① 样本处理

血清（浆）、唾液等液体样本：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，避免铁离子污染。
- ③ 粉剂比较难溶解，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，覆膜室温静置 5 min，酶标仪 520 nm 处，测定各孔 OD 值。

样本部分

待测样本上清的制备:取 50 μL 血清，加入 50 μL 的 10 mg/L 铁标准品应用液，涡旋混匀 3 s，室温静置 5 min，再加入一支试剂五，涡旋混匀 3 s，室温静置 5 min 后，3000 $\times g$ ，离心 10 min，取上清待测。

- ① 测定管：取 50 μL 待测样本上清到 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	测定管
双蒸水(μL)	50	--
待测样本上清(μL)	--	50
铁显色剂(μL)	250	250
涡旋混匀 3 s, 沸水浴 5 min, 流水冷却, $10000 \times g$, 离心 10 min, 取 $180 \mu\text{L}$ 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：

$$\text{TIBC} \text{ (mg/L)} = (\Delta A_{520} - b) \div a \times f$$

$$\text{或 } \text{TIBC} \text{ (}\mu\text{mol/L)} = (\Delta A_{520} - b) \div a \times f \times c_1$$

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

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

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_{520} : 样本测定 OD 值-对照 OD 值

f: 样本加入检测体系之前的稀释倍数

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($\mu\text{mol/L}$)

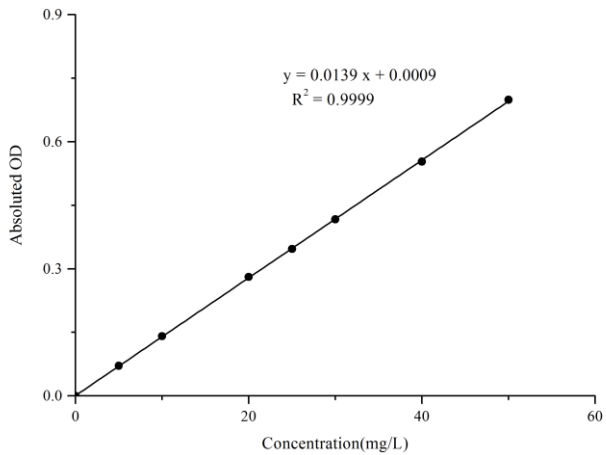
i: 铁饱和度%

附录1 关键数据

1. 技术参数

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

2. 标准曲线(数据仅供参考)



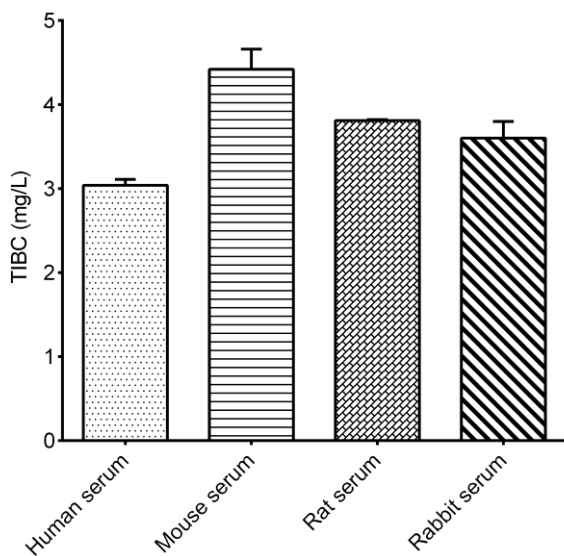
附录2 实例分析

例：(数据仅供参考)

取50 μL 人血清样本，按照说明书操作，结果如下：TIBC的标准曲线： $y = 0.014x - 0.0009$ ，测定孔平均OD值为0.080，对照孔平均OD值为0.038，计算结果为：

$$\text{TIBC (mg/L)} = (0.080 - 0.038 + 0.0009) \div 0.014 = 3.06 \text{ mg/L}$$

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 *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