



## 血清总铁结合能力（TIBC）检测试剂盒说明书

微量法

**注意：**本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2865

规格：100T/96S

**产品组成：**使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存
试剂四 A	液体 2.5 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四 B	液体 2.5 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂五	液体 12 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 支	2-8°C保存

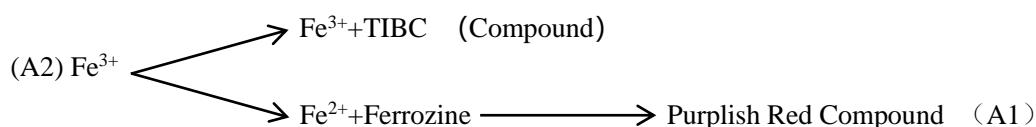
溶液的配制：

1. 试剂四：临用前根据用量将 A 液和 B 液按 1:1 混合；
2. 标准品：临用前加 0.9mL 蒸馏水溶解，得到 40 $\mu$ mol/mL FeSO<sub>4</sub> 溶液，2-8°C保存 8 周。

### 产品说明：

血清总铁结合能力指血清转铁蛋白可结合铁的能力，其含量高低与缺铁性贫血、急性肝炎等疾病的发生密切相关。

Fe<sup>2+</sup>与菲洛嗪反应形成紫红色化合物，在562nm处有特征吸收峰。碱性条件下，血清转铁蛋白可以与Fe<sup>3+</sup>结合，剩余未结合的Fe<sup>3+</sup>可以被还原成Fe<sup>2+</sup>，此时吸光度A1与未结合Fe<sup>3+</sup>数量正相关；酸化后，转铁蛋白结合的Fe<sup>3+</sup>释放，并且进一步被还原成Fe<sup>2+</sup>，此时吸光度A2与总Fe<sup>3+</sup>数量正相关。A2减A1与TIBC呈正比。



### 技术指标：

最低检出限：第一次测量的检出限为 0.00098  $\mu$ mol/mL；第二次测量的检出限为 0.0012  $\mu$ mol/mL。

线性范围：第一次测量的线性范围为 1.95 $\times 10^{-3}$ -0.5  $\mu$ mol/mL；第二次测量的线性范围为 1.95 $\times 10^{-3}$ -0.5  $\mu$ mol/mL。

**注意：**实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、微量玻璃比色皿/96孔板、EP管、蒸馏水。

### 操作步骤：

一、测定步骤（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 1、标准溶液的稀释：取 20 $\mu$ L 40 $\mu$ mol/mL FeSO<sub>4</sub> 标准液，加入 1580 $\mu$ L 蒸馏水，充分混匀，配制成 0.5 $\mu$ mol/mL

标准液使用，现用现配。（实验中每管需要 40μL，为减小实验误差，故配制大体积。）

- 2、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 562nm，分光光度计需用蒸馏水调零。
- 3、试剂一 37℃预热 10min。
- 4、样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称（μL）	测定管	空白管	标准管
血清	40	-	-
标准液	-	-	40
蒸馏水	-	40	-
试剂一	280	280	280
试剂二	40	-	-
试剂三	-	40	40
混匀，37℃下反应 10min			
试剂四	40	40	40
混匀，37℃反应 5min，取出 200μL 于 96 孔板/微量比色皿测定 562nm 处吸光值，分别记为 A1 测、A1 空、A1 标，并计算 $\Delta A1 \text{ 测} = A1 \text{ 测} - A1 \text{ 空}$ 、 $\Delta A1 \text{ 标} = A1 \text{ 标} - A1 \text{ 空}$ 。测完后将反应液倒回对应 EP 管加入试剂五。标准管和空白管只需测 1-2 次。			
试剂五	120	120	120
混匀，37℃反应 5min，取出 200μL 于 96 孔板/微量比色皿测定 562nm 处吸光值，分别记为 A2 测、A2 空、A2 标，并计算 $\Delta A2 \text{ 测} = A2 \text{ 测} - A2 \text{ 空}$ 、 $\Delta A2 \text{ 标} = A2 \text{ 标} - A2 \text{ 空}$ 。标准管和空白管只需测 1-2 次。			

## 二、血清总铁结合力计算

总铁结合能力定义：37℃条件下，每升血清结合  $Fe^{3+}$  的  $\mu\text{mol}$  数。

$$\begin{aligned} \text{总铁结合能力 TIBC } (\mu\text{mol/L}) &= C \text{ 标准} \times \Delta A2 \text{ 测} \div \Delta A2 \text{ 标} - C \text{ 标准} \times \Delta A1 \text{ 测} \div \Delta A1 \text{ 标} \\ &= 500 \times (\Delta A2 \text{ 测} \div \Delta A2 \text{ 标} - \Delta A1 \text{ 测} \div \Delta A1 \text{ 标}) \end{aligned}$$

C 标准：标准液浓度， $0.5\mu\text{mol/mL} = 500\mu\text{mol/L}$ 。

### 注意事项：

1. A1 测小于 0.1 时，建议将样本用蒸馏水适当稀释再测定，注意计算公式里乘以稀释倍数。
2. 试剂二、试剂四有一定的毒性，操作时请做好防护措施。

### 实验实例：

- 1、取 40μL 用蒸馏水稀释 2 倍的骆驼血清，按照测定步骤操作，测得计算  $\Delta A1 \text{ 测} = A1 \text{ 测} - A1 \text{ 空} = 0.342$ ， $\Delta A1 \text{ 标} = A1 \text{ 标} - A1 \text{ 空} = 0.746$ ， $\Delta A2 \text{ 测} = A2 \text{ 测} - A2 \text{ 空} = 0.735$ ， $\Delta A2 \text{ 标} = A2 \text{ 标} - A2 \text{ 空} = 0.550$ ，计算总铁结合能力得：  
总铁结合能力 TIBC ( $\mu\text{mol/L}$ ) =  $500 \times (\Delta A2 \text{ 测} \div \Delta A2 \text{ 标} - \Delta A1 \text{ 测} \div \Delta A1 \text{ 标}) \times 2 = 877.919 \mu\text{mol/L}$ 。
- 2、取 40μL 用蒸馏水稀释 2 倍的鹅血清，按照测定步骤操作，测得计算  $\Delta A1 \text{ 测} = A1 \text{ 测} - A1 \text{ 空} = 0.191$ ， $\Delta A1 \text{ 标} = A1 \text{ 标} - A1 \text{ 空} = 0.746$ ， $\Delta A2 \text{ 测} = A2 \text{ 测} - A2 \text{ 空} = 0.732$ ， $\Delta A2 \text{ 标} = A2 \text{ 标} - A2 \text{ 空} = 0.550$ ，计算总铁结合能力得：  
总铁结合能力 TIBC ( $\mu\text{mol/L}$ ) =  $500 \times (\Delta A2 \text{ 测} \div \Delta A2 \text{ 标} - \Delta A1 \text{ 测} \div \Delta A1 \text{ 标}) \times 2 = 1074.877 \mu\text{mol/L}$ 。

### 相关系列产品：

- BC2790/BC2795 血镁浓度检测试剂盒
- BC1650/BC1655 血磷浓度检测试剂盒
- BC2800/BC2805 血钠浓度检测试剂盒