

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℃保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存
试剂四 A	液体 2.5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四 B	液体 2.5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 12 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

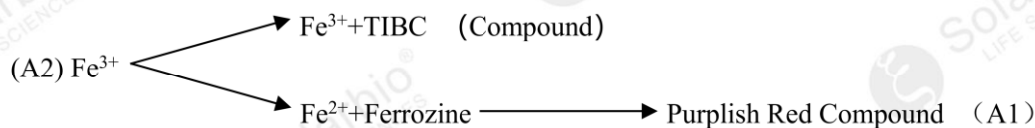
溶液的配制：

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 40μmol/mL FeSO₄ 溶液，2-8℃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。

Fe²⁺与菲洛嗉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Fe³⁺结合，剩余未结合的Fe³⁺可以被还原成Fe²⁺，此时吸光度A1与未结合Fe³⁺数量正相关；酸化后，转铁蛋白结合的Fe³⁺释放，并且进一步被还原成Fe²⁺，此时吸光度A2与总Fe³⁺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 μmol/mL；第二次测量的检出限为 0.0012 μmol/mL。

线性范围：第一次测量的线性范围为 1.95×10⁻³-0.5 μmol/mL；第二次测量的线性范围为 1.95×10⁻³-0.5 μmol/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。

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 20μL 40μmol/mL FeSO₄ 标准液，加入 1580μL 蒸馏水，充分混匀，配制成 0.5μmol/mL





标准液使用，现用现配。（实验中每管需要 40 μ L，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 $^{\circ}$ C 预热 10min。

4、样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称 (μ L)	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 $^{\circ}$ C 下反应 10min			
试剂四	40	40	40
混匀，37 $^{\circ}$ C 反应 5min，取出 200 μ L 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 $^{\circ}$ C 反应 5min，取出 200 μ L 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 $^{\circ}$ C 条件下，每升血清结合 Fe^{3+} 的 μmol 数。

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

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 40 μ L 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 40 μ L 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



本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。

For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.