

总铁结合力(TIBC)检测试剂盒(亚铁嗪比色法)

产品简介:

铁是人体必需微量元素,总含量约为3270mg。铁分布较广,有67.6%的铁作为血红蛋白分子的辅基分布于血红蛋白中,参与铁的运输;骨骼和肌红蛋白中各存在2.59%和4.15%,储存铁约占25.37%血清中铁均以三价铁离子形式与转铁蛋白结合,因此测定血清铁时,首先需要 Fe^{3+} 与转铁蛋白分离。总铁结合力(TIBC)是指血清中转铁蛋白能与铁结合的总量。

总铁结合力(TIBC)检测试剂盒(亚铁嗪比色法)是采用分光光度法以亚铁嗪为底物进行总铁结合力的检测,是将过量的铁加入待测血清、血浆中,使铁与多余的转铁蛋白结合,游离铁被铁吸附剂吸附除去。在酸性介质中与转铁蛋白结合的血清铁从转铁蛋白中解离出来,再被还原剂还原为 Fe^{2+} ,后者与亚铁嗪生成紫红色化合物,通过分光光度计检测562nm处吸光度值,适用于检测血清、血浆样品中的总铁含量,即为总铁结合力(TIBC)。上述检测方法属于直接检测法,应设血清空白,纠正血清本身的色度,根据公式计算出铁含量。该检测试剂盒在 $140\mu\text{mol/L}$ 以下线性关系良好,甘油三酯 $\leq 3.39\text{mmol/L}$,胆红素 $\leq 171\mu\text{mol/L}$,对本法基本无干扰。本试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	50T	Storage
试剂(A):铁标准($100\mu\text{g/ml}$)	3ml	4°C 避光
试剂(B):TIBC铁标准稀释液	30ml	RT
试剂(C):TIBC Assay buffer	60ml	4°C
试剂(D):亚铁嗪显色液	3ml	4°C 避光
试剂(E): ddH_2O	10ml	RT
试剂(G):铁吸附剂	3g	RT
使用说明书	1份	

自备材料:

- 1、离心管或试管
- 2、比色杯
- 3、分光光度计

操作步骤(仅供参考):

- 1、制备处理样品铁溶液和铁标准工作液:取适量铁标准($100\mu\text{g/ml}$),按铁标准($100\mu\text{g/ml}$):TIBC铁标准稀释液=1:9的比例配制铁标准($10\mu\text{g/ml}$),作为处理样品铁溶液;同时按铁标准($100\mu\text{g/ml}$):TIBC铁标准稀释液=1:49的比例配制铁标准($2\mu\text{g/ml}$),作为铁标准工作液。4°C避光保存3个月有效。
- 2、制备样品:血浆、血清按照常规方法制备,可以直接用于本试剂盒的测定,-20°C冻存,用于TIBC的检测。选用经稀盐酸处理及去离子水清洁的干燥有塞子的试管或者一次性无菌聚乙烯有盖子的离心管,加入血清或血浆0.45ml、铁标准($10\mu\text{g/ml}$)0.25ml、 ddH_2O 0.2ml,充分混匀,室温放置10min。加入铁吸附剂50mg,混匀,室温放置10min,期间振荡4次,3000g离心10min,取上清液,待用。
- 3、TIBC检测:选用经稀盐酸处理及去离子水清洁的干燥的试管或者一次性无菌聚乙烯的离心管,按下表操作。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
---------	-----	-----	-----

ddH ₂ O	0.45	—	—
铁标准(2 μg/ml)	—	0.45	—
上清液	—	—	0.45
TIBC Assay buffer	1.2	1.2	1.2
混匀, 于 562nm 处, 以空白管调零, 读取测定管吸光度 (即血清空白)。			
亚铁嗪显色液	0.05	0.05	0.05

4、混匀, 室温静置 15min 或 37℃ 孵育 10min, 分光光度计 562nm 处检测, 以空白管调零, 比色杯光径 0.5cm, 再次读取各管吸光度, 1h 内比色完毕。

计算:

$$\text{血浆、血清总铁结合力(TIBC)} (\mu\text{mol/L}) = \{(A_{\text{测定}} - A_{\text{血清空白}} \times 0.97) / A_{\text{标准}}\} \times 71.6$$

式中: $A_{\text{测定}}$ = 测定孔加入亚铁嗪显色液后测得的吸光度值

$A_{\text{血清空白}}$ = 测定孔未加入亚铁嗪显色液前测得的吸光度值

$A_{\text{标准}}$ = 标准孔的吸光度值

单位换算: 铁标准(2 μg/ml) = 铁标准(35.8 μmol/L)

$$\mu\text{g/dl} = \mu\text{mol/L} / 0.179$$

血浆、血清未饱和铁结合力(UIBC) (μmol/L) = TIBC 含量 - 血清铁含量

参考区间:

成年健康人血清总铁结合力:

男性: 50~77 μmol/L (280~430 μg/dl)

女性: 54~77 μmol/L (300~430 μg/dl)

注意事项:

- 1、溶血样本对检测有干扰, 尽量避免采用溶血样本。
- 2、如果样品浓度过高, 应用蒸馏水稀释后重测, 结果乘以稀释倍数。
- 3、实验过程中用到的水, 不可用普通的蒸馏水, 尽量采用高纯度的去离子水。