

## 游离血红蛋白（Fhb）检测试剂盒（邻联甲苯胺比色法）

产品货号：BA1821

产品规格：50T/100T

### 产品简介：

血红蛋白(Hemoglobin, Hb或HGB)是高等生物体内负责运载氧的一种蛋白质，是能使血液呈红色的蛋白。血红蛋白由四条链组成，两条 $\alpha$ 链和两条 $\beta$ 链，每一条链有一个包含一个铁原子的环状血红素，Hb在氧含量高的区域容易与氧结合，在氧含量低的区域又容易与氧分离，血红蛋白的这一特性，使红细胞具有运输氧的功能，血管溶血时，血浆游离血红蛋白(free hemoglobin)浓度增高。

游离血红蛋白检测试剂盒（邻联甲苯胺比色法）检测原理是血红蛋白中亚铁血红素有类似过氧化物酶的作用，可在氧化剂的作用下催化邻联甲苯胺(O-tolidine)产生青色或蓝色产物，吸收峰在630nm；在酸性条件下产物呈黄色，吸收峰在435nm，产物黄色越深，说明FHB含量越高，反之越低。通过分光光度比色法测定435nm处吸光度，就可计算出血浆游离血红蛋白含量。该试剂盒主要用于血浆样本，亦可用于测定细胞或组织的裂解液或匀浆液等样品中游离血红蛋白含量。该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	100T	保存条件
试剂(A): O-tolidine Solution	10ml	20ml	2-8℃，避光
试剂(B): 氧化剂	10ml	20ml	2-8℃
试剂(C): Acid Assay Buffer	50ml	100ml	室温
试剂(D): Hb(1mg/ml)	0.5ml	0.5ml	2-8℃

### 自备材料：

- 96孔板、酶标仪或分光光度计
- 生理盐水或蒸馏水

### 操作步骤(仅供参考)：

- 准备样品：
  - ①血浆、尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定，尿液通常也可以直接用于测定，获得的样品-20℃冻存备用。
  - ②细胞或组织样品：取恰当的细胞或组织裂解液，如果有必要需进行适当匀浆，低速离心取上清，获得的样品-20℃冻存备用。
- 配制Hb标准品工作液：取Hb(1mg/ml) 10 $\mu$ l加入90 $\mu$ l生理盐水，即为标准品工作液(100 $\mu$ g/ml)。
- FHB加样：取96孔板或EP管，按照下表设置空白孔/管、标准孔/管、测定孔/管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的血红蛋白含量过低，可以增加各管用量（0.02增加到0.1或其他用量，保证各管体积一致即可）；如果样品中的血红蛋白含量过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。样品的检测最好能设置平行孔/管，尤其是标准品应作三复孔/管。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

加入物(ml)	空白孔/管	标准孔/管	测定孔/管
生理盐水	0.02	-	-
Hb标准品工作液	-	0.02	-
待测样品	-	-	0.02
O-tolidine Solution	0.2	0.2	0.2
氧化剂	0.2	0.2	0.2
充分混匀，室温放置10min。			
Acid Assay Buffer	1	1	1
蒸馏水	1	1	1

4. FHB测定：空白调零，以分光光度计测定435nm处标准孔/管和测定孔/管的吸光度，如果无法检测435nm，亦可检测425~450nm范围内吸光度。

#### 计算结果：

血浆游离血红蛋白(mg/L)=测定吸光度/标准吸光度×100(mg/L)，一般<40mg/ml

#### 注意事项：

1. Hb(1mg/ml)为市售的牛血红蛋白与生理盐水配制而成的，未用HiCN标定其浓度，可能有一定误差，有特殊需求的可以自备相关标准品。
2. Hb(1mg/ml)和标准品工作液(100µg/ml)均应4℃保存，同时应避免污染。
3. 也可用酶标仪测定，但应根据酶标仪的最大检测体积进行调整。
4. 本反应比较快，加入Acid Assay Buffer和蒸馏水后应立即检测，一般30min内颜色变化不大，但应保证不同批次实验用相同的检测时间。
5. O-tolidine Solution和Acid Assay Buffer由一定腐蚀性，请小心操作，避免直接接触身体。
6. 氧化剂含有少量的过氧化氢，使用后应及时拧紧瓶盖，如果反应不变化，可考虑重新配制本氧化剂溶液。（0.05%水溶液即可）
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**6个月有效。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com