

## 游离血红蛋白（Fhb）含量检测试剂盒（微量法）

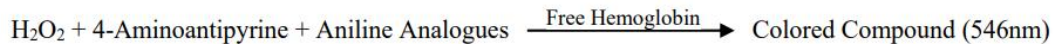
产品货号：BA2267

产品规格：100T/96S

### 产品说明：

血管内发生溶血时，红细胞破裂，释放出血红蛋白，血浆中游离血红蛋白（free hemoglobin, Fhb）增多。自身免疫性溶血性贫血、镰刀型细胞贫血、珠蛋白生成障碍性贫血患者血浆Fhb有轻度至中度增加，阵发性睡眠性血红蛋白尿症、阵发性严寒性血红蛋白尿症、不稳定血红蛋白病等会出现血尿症状。因此，血浆中Fhb的测定对于临床诊断溶血性疾病有重要作用。

血红蛋白中的亚铁血红素有类似过氧化物酶的催化活性，能够催化过氧化氢氧化4-氨基安替比林和苯胺类似物，生成紫色化合物，其在546nm有特征吸收峰，其颜色深浅与Fhb含量成正比。



**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。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体16mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体16mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体1mL×1支	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 工作液：临用前根据样本量按照试剂一：试剂二：试剂三=500 μL：500 μL：25 μL（1.025mL，约4T）的比例配制工作液，现用现配。
2. 标准品：5mg血红蛋白，临用前加入1mL蒸馏水，充分混匀，配制成5mg/mL标准液，2-8℃可保存4周。

### 自备材料：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、冰和蒸馏水。

### 测定步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

血浆等液体：直接测定。若有浑浊请离心后取上清置于冰上待测。

#### 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至546nm，可见分光光度计蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释：将5mg/mL（5000mg/L）血红蛋白标准液用蒸馏水进行稀释得到156.25、78.125、39.063、19.531、9.766、4.883mg/L的标准溶液备用。
3. 标准溶液稀释可参考下表：



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

序号	稀释前浓度 (mg/L)	标准溶液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/L)
1	5000	25	775	156.25
2	156.25	100	100	78.125
3	78.125	100	100	39.063
4	39.063	100	100	19.531
5	19.531	100	100	9.766
6	9.766	100	100	4.883

备注：实验中每个标准管需15μL标准溶液。

- 将工作液37°C预热15min。
- 在微量玻璃比色皿/96孔板中按下表步骤加样：

试剂名称 (μL)	空白管	测定管	标准管
蒸馏水	15	-	-
样本	-	15	-
标准溶液	-	-	15
工作液	250	250	250

充分混匀，37°C反应5min，测定546nm处吸光值A，分别记为A空白、A测定、A标准，计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白管和标准曲线只需测定1-2次。

### 三、游离血红蛋白 (FHb) 含量计算

#### 1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 (x, mg/L) 和吸光度  $\Delta A_{\text{标准}}$  (y,  $\Delta A_{\text{标准}}$ )，建立标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A_{\text{测定}}$  (y,  $\Delta A_{\text{测定}}$ ) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/L)。

#### 2. FHb含量的计算：

游离血红蛋白 (FHb) 含量 (mg/L) = x × F

F：样本稀释倍数。

#### 注意事项：

- 若测定血浆样本，采样和分离血浆过程中避免发生溶血。
- 若样本测定管吸光值  $A_{\text{测定}} > 1$ ，建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定。
- 若样本测定管吸光值  $A_{\text{测定}} < 0.01$  或接近空白管吸光值，建议将样本加样量增大后再进行测定，空白管和标准管加样量也需进行相应调整。



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