

糖化血红蛋白（GHb）含量检测试剂盒（微量法）

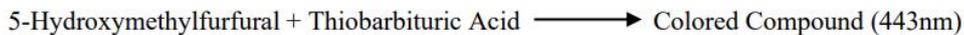
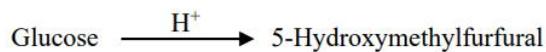
产品货号：BA2204

产品规格：100T/96S

产品简介：

糖化血红蛋白（Glycated Hemoglobin, GHb）是红细胞中的血红蛋白与血清中的糖类（主要指葡萄糖）通过非酶反应相结合的产物。通常认为，糖化血红蛋白浓度可有效地反映过去8~12周平均血糖水平。糖化血红蛋白由HbA1a、HbA1b、HbA1c组成，其中HbA1c约占70%，且结构较为稳定，临床上常用作糖尿病控制的监测指标。

糖化血红蛋白上的糖在酸性条件下加热，脱水缩合生成5-羟甲基糠醛（5-HMF），5-HMF与TBA（Thiobarbituric Acid, TBA）反应生成有色物质，在443nm处有特征吸收峰。



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25mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体14mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体14mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体6mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 标准品：临用前加入1mL蒸馏水充分溶解，即为10mg/mL血红蛋白标准品，2-8℃可保存4周。
2. 0.625mg/mL标准品配制：取50μL 10mg/mL血红蛋白标准品，加入750μL蒸馏水，充分混匀，配制成0.625mg/mL的血红蛋白标准品使用，现配现用。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、冰、蒸馏水和生理盐水。

操作步骤：

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）

1. 红细胞制备：取抗凝全血，于1000-3000rpm，4℃离心10min，留下层红细胞，加入生理盐水，轻轻颠倒混匀，再次离心，留下层红细胞，再加入生理盐水重复洗涤1-2次，得到红细胞用于制备溶血液。
2. 溶血液制备：取红细胞，加入适量冷蒸馏水，充分漩涡混匀，得到溶血液。

注：测定一次至少需要300μL。

二、测定步骤

A、总血红蛋白含量测定

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至400nm。分光光度计用蒸馏水调零。
2. 操作表：（在1.5mL EP管中加入下列试剂）



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

试剂名称 (μL)	空白管 1 (A _{空白1})	测定管 (A _总)	标准管 (A _{标准})
蒸馏水	50	-	-
样本		50	-
标准品			50
试剂一	200	200	200

充分混匀，常温静置 5min，取 200 μL 反应液于微量玻璃比色皿/96 孔板中，测定 400nm 处吸光值 A，记为 A_{空白1}、A_总、A_{标准}，计算 $\Delta A_{总} = A_{总} - A_{空白1}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白1}$ 。空白管 1 和标准管只需测 1-2 次。

B、糖化血红蛋白含量 (GHb) 测定

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 443nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 操作表：（在 1.5mL EP 管中加入下列试剂）

试剂名称 (μL)	空白管 2 (A _{空白2})	测定管 (A _{测定})
蒸馏水	250	-
样本	-	250
试剂二	125	125
缓慢加入试剂二，充分混匀，沸水浴 1h，冷却至室温		
试剂三	125	125
务必缓慢加入试剂三，充分混匀，3500g，室温离心 10min，取上清待测		
上清液	200	200
试剂四	50	50

充分混匀，40℃水浴 30min，冷却至室温后，取 200μL 反应液于微量玻璃比色皿/96 孔板中，测定 443nm 处吸光值 A，记为 A_{空白2}、A_{测定}，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白2}$ 。空白管 2 只需测 1-2 次。

三、糖化血红蛋白 (GHb) 含量的计算

1. 总血红蛋白 (Hb) 含量计算：

总血红蛋白含量 (g/mL) = $\Delta A_{总} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times F = 6.25 \times 10^{-4} \times \Delta A_{总} \div \Delta A_{标准} \times F$

C_{标准}：标准品的浓度，0.625mg/mL = 6.25×10^{-4} g/mL；F：稀释倍数。

2. 糖化血红蛋白含量计算 糖化血红蛋白含量以每 10g 血红蛋白的吸光值表示。

每 10g 血红蛋白吸光值 = $\Delta A_{测定} \div (CHb \div 2 \times V_{上清}) \times 10 \times F = 100 \times \Delta A_{测定} \div CHb \times F$

CHb：样本总血红蛋白含量，g/mL；V_{上清}：GHb 含量测定步骤加入上清液体积，0.2mL；2：GHb 含量测定步骤样本到上清液的过程中稀释 2 倍；10：血红蛋白质量，10g；F：稀释倍数。

3. 计算结果换算公式：

- A. 使用微量玻璃比色皿测定：

IFCC-HbA1c (%) = (每 10g 血红蛋白吸光度 $\times 0.001 + 0.0154$) $\times 100\%$

IFCC-HbA1c (mmol/mol) = $1300 \times \text{IFCC-HbA1c} (\%) - 7.4$ (此公式计算时应将%转化为除以 100 的小数计算)

DCCT-HbA1c (%) = $[(\text{IFCC-HbA1c} (\text{mmol/mol}) \div 10.929 + 2.15) \div 100] \times 100\%$

- B. 使用 96 孔板测定：

IFCC-HbA1c (%) = (每 10g 血红蛋白吸光度 $\times 0.0005 + 0.0154$) $\times 100\%$

IFCC-HbA1c (mmol/mol) = $1300 \times \text{IFCC-HbA1c} (\%) - 7.4$ (此公式计算时应将%转化为除以 100 的小数计算)

DCCT-HbA1c (%) = $[(\text{IFCC-HbA1c} (\text{mmol/mol}) \div 10.929 + 2.15) \div 100] \times 100\%$



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

注意事项:

1. GHb 含量测定过程中沸水浴时建议使用带盖螺旋 EP 管，如果使用普通 EP 管，需缠上多层封口膜，避免沸水浴过程中 EP 管盖崩开。
2. 加入试剂三时需边加试剂边混匀，加入部分试剂三后可能出现反应液凝固的现象，需搅匀后再离心。
3. 如果样本总血红蛋白测定管吸光值大于 1，建议将样本用蒸馏水稀释后进行测定，计算公式中注意同步修改；如果样本总血红蛋白测定管吸光值小于 0.01 或接近空白管吸光值，可适当增大样本量，空白管和标准管也需要进行相应调整。
4. 如果样本糖化血红蛋白测定吸光值 ΔA 测定大于 1.0，建议将样本用蒸馏水稀释后进行测定，计算公式中注意同步修改；如果样本糖化血红蛋白测定吸光值 ΔA 测定小于 0.01，可适当增大样本量，空白管和标准管也需要进行相应调整。



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