

游离血红蛋白（Fhb）含量检测试剂盒（微量法）

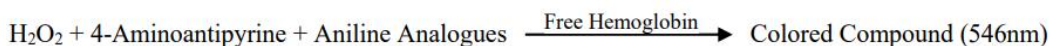
产品货号：BA2267

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

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.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 | 36.063 | 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℃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℃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 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。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 $\Delta A_{标准}$ (y, $\Delta A_{标准}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{测定}$ (y, $\Delta A_{测定}$) 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 $A_{测定} > 1$ ，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 $A_{测定} < 0.01$ 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

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com