

糖化血红蛋白（GHb）含量检测试剂盒（可见分光光度法）

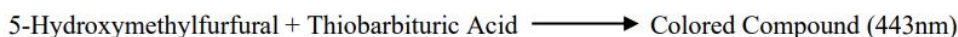
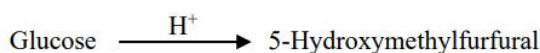
产品货号：BA2203

产品规格：50T/48S

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占约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50mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体25mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体25mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体12mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

- 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。
- 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、低温离心机、水浴锅、1mL玻璃比色皿、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）

- 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。
- 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950μL。

二、测定步骤

A、总血红蛋白含量测定

- 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至400nm。蒸馏水调零。
- 操作表：（在1.5mL EP管中加入下列试剂）

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	200	-	-
样本		200	-
标准品			200



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

试剂一	800	800	800
充分混匀，常温静置 5min，取反应液于 1mL 玻璃比色皿中，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）含量测定

1. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 443nm，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（ μ L）	空白管 2（A _{空白2} ）	测定管（A _{测定} ）
蒸馏水	750	-
样本	-	750
试剂二	375	375
缓慢加入试剂二，充分混匀，沸水浴 1h，冷却至室温		
试剂三	375	375
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	800	800
试剂四	200	200
充分混匀，40°C 水浴 30min，冷却至室温后，取反应液于 1mL 玻璃比色皿中，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：

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

C_{标准}：标准品的浓度，0.625mg/mL=6.25×10⁻⁴g/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。

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

C_{Hb}：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，0.8mL；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：

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

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

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

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吸光值 $\Delta A_{总}$ 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；如果样本总血红蛋白测定吸光值 $\Delta A_{总}$ 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。注意修改计算公式。
4. 如果样本糖化血红蛋白测定吸光值 $\Delta A_{测定}$ 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 $\Delta A_{测定}$ 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

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