



糖化血红蛋白（GHb）含量检测试剂盒

Glycosylated Hemoglobin (GHb) Content Assay Kit

Glycosylated Hemoglobin (GHb)



5-Hydroxymethylfurfural



Colored Compound

北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



糖化血红蛋白（GHb）含量检测试剂盒

Glycosylated Hemoglobin (GHb) Content Assay Kit

一、产品描述

糖化血红蛋白（GHb）是红细胞中的血红蛋白与血清中的糖类（主要指葡萄糖），糖化血红蛋白由 HbA1a、HbA1b、HbA1c 组成，其中 HbA1c 占比约 70%，且结构较为稳定。糖化血红蛋白的非酶反应具有持续、缓慢、不可逆的特点，其含量是由过去的而非即时的血糖浓度决定的，与检测前是否空腹、是否注射胰岛素、是否服用降糖药物等因素无关，常用于糖尿病控制指标的监测。

糖化血红蛋白中的糖在酸性条件下加热，可脱水缩合生成 5-羟甲基糠醛（5-HMF），5-HMF 与 TBA（Thio Barbituric Acid, TBA）反应生成有色物质，产物在 443 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测糖化血红蛋白的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	液体 12 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 血红蛋白)	4°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 血红蛋白标准液)
标准应用液的制备（现用现配）：将 10 mg/mL 血红蛋白标准液使用蒸馏水稀释至 0.6 mg/mL 即为标准应用液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、生理盐水和蒸馏水。

1. 样本处理

①红细胞制备：收集抗凝全血，4°C 3000 rpm 离心 10 min，弃上清留下层红细胞，加入生理盐水，缓慢颠倒混匀，4°C 3000 rpm 离心 10 min，弃上清留下层红细胞，重复加入生理盐水至离心留沉淀步骤 1-2 次，离心沉淀即为红细胞用于制备溶血样本。

②溶血样本的制备：吸取红细胞加入适量蒸馏水充分混匀，即为溶血样本。

2.测定步骤

2.1 总血红蛋白含量测定

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 1 (μL)
待测样本	200	-	-
标准应用液	-	200	-
蒸馏水	-	-	200
试剂一	800	800	800
充分混匀，室温静置 5 min			

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 400 nm 处吸光值，记为 A 总、A 标准和 A 空白 1；计算 $\Delta A_{\text{总}} = A_{\text{总}} - A_{\text{空白 1}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白 1}}$ ；注：空白管 1 只需测 1-2 次。

2.2 糖化血红蛋白含量测定

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 443 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	空白管 2 (μL)
待测样本	750	-
蒸馏水	-	750
试剂二	375	375
充分混匀，沸水浴处理 1 h，冷却至室温		
试剂三	375	375
充分混匀，4000 g 常温离心 10 min，取上清液		
上清液	800	800
试剂四	200	200
充分混匀，40°C 显色 30 min，冷却至室温		

注：加入试剂二和试剂三时务必缓慢加入，沸水浴处理过程中注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 443 nm 处吸光值，记为 A 测定，A 空白 2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白 2}}$ ；注：空白管 2 只需测 1-2 次。

3.糖化血红蛋白（GHb）含量的计算

3.1 总血红蛋白（Hb）含量计算

$$C_{\text{Hb}} (\text{g/mL}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{总}} \times 10^{-3} \times D}{\Delta A_{\text{标准}}} = \frac{6 \times 10^{-4} \times \Delta A_{\text{总}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

注释：C 标：标准应用液浓度，0.6 mg/mL； 10^{-3} ：单位换算稀释，1 mg= 10^{-3} g；D：待测样本稀释倍数。

3.2 糖化血红蛋白（GHb）含量的计算

糖化血红蛋白含量表示方式：以每 10 g 血红蛋白的吸光值表示

$$\text{每 10 g 血红蛋白吸光值} = \frac{\Delta A_{\text{测定}} \times 2 \times 10 \times D}{C_{\text{Hb}} \times V_{\text{上清}}} = \frac{25 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{C_{\text{Hb}}}$$

注释： C_{Hb} ：样本总血红蛋白含量，g/mL；V 上清：糖化血红蛋白测定过程中加入上清液的体积，0.8 mL；2：测定过程中样本到上清液的过程中稀释倍数；10：血红蛋白质量，10 g；D：待测样本稀释倍数。

3.3 计算结果换算公式

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

$$\text{IFCC-HbA1c (mmol/mol)} = 1300 \times \text{IFCC-HbA1c (\%)} \div 100 - 7.4$$

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

四、注意事项

- ①加入试剂三时需边加边混匀，加入试剂三后可能出现反应液凝固的现象，需搅匀后再进行离心；
- ②若总血红蛋白测定吸光值 $\Delta A_{\text{总}}$ 大于 1.0 时，建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；若总血红蛋白测定吸光值 $\Delta A_{\text{总}}$ 小于 0.02 时，建议增加待测样本制备过程中的样本量，重新提取后再进行测定，计算时相应修改；
- ③若糖化血红蛋白测定吸光值 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1.0 时，建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后进行测定，计算时相应修改；若糖化血红蛋白测定吸光值 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.02 时，建议增加待测样本制备过程中的样本量，重新提取后再进行测定，计算时相应修改；
- ④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

