

糖化血红蛋白（GHb）测试盒

比色法 15 管/14 样

一、测定原理：

血红蛋白中具有酰胺键的糖化血红蛋白在酸性环境中加热，使己糖部分脱水，生成 5-羟甲基糠醛（5-HMF）化合物，后者可与 TBA 反应呈黄色，然后进行比色定量。

二、试剂组成：

试剂一：液体 20ml×1 瓶，室温保存 6 个月。

试剂二：蛋白沉淀剂 20ml×1 瓶，室温保存 6 个月。

试剂三：显色剂 10ml×1 瓶，室温避光保存 3 个月。

试剂四：氰化高铁血红蛋白测试液 40ml×1 瓶，避光保存 3 个月。

三、操作过程：

1、红细胞洗涤：

取 EDTA 或肝素抗凝全血 2~4ml 置于带刻度离心管中，以 500~1000 转/分，离心 5~10 分钟，弃上清留沉淀的红细胞，然后用生理盐水按上述方法洗涤 2~3 次。（若来不及洗涤抗凝全血可放置 48 小时）

2、溶血液的制备：

①、取压积红细胞 1ml 加冷双蒸水 1.5ml，用手激烈震荡数分钟，或旋涡混匀器充分混匀 1 分钟制得溶血液，此溶血液-20℃保存，可放置 70 天。

②、溶血液的血红蛋白（Hb）浓度测定方法如下：

取溶血液 10 1 加试剂四 2.5ml，混匀，室温放置 10 分钟，用分光光度计在 540nm 处，1cm 光径水调零测各管吸光度；将所得吸光度×0.3677 即为 Hb 的含量 g/ml 。

3、酸化：

取玻璃试管，标明“0”即空白管，“U”即测定管，在“0”管中加入双蒸水 2ml，“U”管中加入溶血液 2ml，然后各管均加入试剂一 1ml 酸化。加试剂一要缓慢，边滴边摇边加入。

4、水解：

将上述试管加橡皮塞或塑料薄膜，（用针戳一小孔再用橡皮筋扎紧，将玻璃管口封住）。置沸水浴中或干燥箱 100℃加热水解 1 小时。

5、显色：

①、各管加试剂二（蛋白沉淀剂）1ml，（遇天冷时，水解液可能会凝固，可再加温使其溶解。）加试剂二要缓慢，边滴边摇边加入。加完后在旋涡混匀器上混匀，再 3000~3500 转/分，离心 10 分钟。

②、取上清 2ml，各加试剂三（显色剂）0.5ml，40℃水浴保温 30 分钟。

③、冷却后，双蒸水调零、443nm、1cm 光径，测各管的吸光度。

四、计算公式：糖化血红蛋白的结果以每 10 克血红蛋白的吸光度表示：

$$\begin{aligned} \text{每 } 10 \text{ 克血红} &= \frac{\text{测定 } OD \text{ 值} - \text{空白 } OD \text{ 值}}{2 \text{ ml 溶血液中血红蛋白克数}} \times \text{稀释倍数} \times 10 \text{ g} \\ \text{蛋白吸光度} &= \frac{\text{测定 } OD \text{ 值} - \text{空白 } OD \text{ 值}}{\text{血红蛋白克数} / \text{毫升溶血液}} \times 10 \end{aligned}$$