

血红蛋白检测试剂盒(显色法)

产品编号	产品名称	包装
P0381S	血红蛋白检测试剂盒(显色法)	100次
P0381M	血红蛋白检测试剂盒(显色法)	500次

产品简介:

- 血红蛋白检测试剂盒(显色法) (Hemoglobin Colorimetric Assay Kit)是一种基于血红蛋白与显色试剂在过氧化氢的存在条件下反应显色,通过比色的方法来测定血清、血浆、组织匀浆液以及尿液等样品中血红蛋白含量的试剂盒。
- 本试剂盒具有操作便捷、灵敏度高、成本低、线性宽、适合高通量检测等优点。检测下限可以达到0.1mg/dl以下,检测上限则可以达到80mg/dl。
- 血红蛋白(Hemoglobin, HB or HGB)是高等生物体内负责运载氧的一种含铁金属蛋白。血红蛋白主要存在于红细胞中,占红细胞干重的97%。此外,血红蛋白也作为抗氧化剂存在于其它的组织中。正是由于含铁离子的血红蛋白的存在,人体的血液是红色的。
- 人体内的血红蛋白由四个亚基构成,分别为两个 α 亚基和两个 β 亚基,而每个亚基由一条肽链和一个血红素分子构成,肽链在生理条件下会盘绕折叠成球形,把血红素分子包在里面,这条肽链盘绕成的球形结构又被称为珠蛋白。血红素分子是一个具有卟啉结构的小分子,在卟啉分子中心,由卟啉中四个吡咯环上的氮原子与一个亚铁离子配位结合,当血红蛋白不与氧分子结合的时候,有一个水分子从卟啉环下方与亚铁离子配位结合;而当血红蛋白载氧的时候,就由氧分子顶替水的位置。血红蛋白的这一特性,使红细胞具有运输氧的功能。在肺组织内,血红蛋白可以充分与氧结合,并通过红细胞将氧气运输到外周组织中以维持细胞活力。除了运输氧分子的功能外,在维持红细胞的正常形态方面,血红蛋白也发挥着重要作用。
- 血红蛋白是贫血筛查和临床诊断最常用的指标之一。血红蛋白浓度下降常见于出血、缺少铁元素、维生素B12或叶酸引起的各类贫血;而血红蛋白浓度增高则多见于真性红细胞增多症、紫绀型先天性心脏病以及由于各种临床病因如中暑和脱水引起的疾病。因此,血红蛋白含量是临床上多种疾病如贫血、红细胞增多症以及脱水诊断的一个重要临床指标。
- 本试剂盒检测血红蛋白的原理参考图1,血红蛋白(Hemoglobin, HB)催化过氧化氢产生氧气同时氧化显色试剂生成绿色的产物,在410nm处有最大吸收波长。

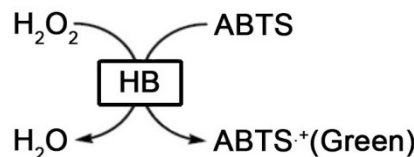


图1. 碧云天生产的血红蛋白检测试剂盒(显色法)检测血红蛋白的原理图。

- 一个小包装的本试剂盒可进行100次检测,一个中包装的本试剂盒可进行500次检测。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P0381S-1	显色试剂	22ml
P0381S-2	过氧化氢溶液(30X)	0.4ml
P0381S-3	血红蛋白(100mg/dl)	0.4ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0381M-1	显色试剂	110ml
P0381M-2	过氧化氢溶液(30X)	2ml
P0381M-3	血红蛋白(100mg/dl)	2ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存,一年有效。其中显色试剂和过氧化氢溶液需避光保存。

注意事项:

- 样品中不能添加DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的物质,也不宜添加Tween、Triton和NP-40等去垢剂。
- 本试剂盒反应时应在室温(约25°C)进行,过高的温度对检测结果影响较大。
- 本试剂盒检测的样品中抗凝剂(EDTA钠、柠檬酸钠、肝素钠)以及胆红素均对检测结果无明显影响,并且待检测的血浆样品中的蛋白质、脂质对实验结果的影响也不大。
- 显色试剂对人体有刺激性,请注意适当防护。
- 过氧化氢溶液(30X)有腐蚀性,操作时请小心,并确保有效防护以避免直接接触人体,并须注意避免腐蚀其它物品。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 样品的准备:

a. 血浆及血清、全血样本的准备:

- (a) 血浆样本:收集全血,加入抗凝剂肝素或柠檬酸钠于700-1000g 4°C离心10分钟,吸取最顶层的黄色血浆,血浆样本可以置于-80°C保存一个月,避免反复冻融。
- (b) 血清样本:收集全血,让血液在室温自动凝聚30分钟,2000g离心5分钟,吸取最上层的黄色血清,可置于-80°C保存一个月。血清及血浆样本检测前均无需稀释。
- (c) 全血样本:收集全血加入抗凝剂肝素或柠檬酸钠,置于4°C保存待测。全血样本检测时需适当稀释。

b. 组织样品的准备:

称取适量的新鲜或冻存组织,可以使用含2% EDTA或0.16mg/ml肝素的PBS (pH7.4)清洗几次以去除多余的红细胞及凝血块,按照组织重量(g)与匀浆液(PBS pH7.4,含2% EDTA或0.16mg/ml肝素)体积(ml)的比例为1:10的比例用玻璃匀浆器或其它适当匀浆设备充分匀浆组织。匀浆后转移至离心管中,10,000g于4°C离心10分钟,取上清作为待测样品。

c. 尿液样本的准备:

对于尿液样本的检测,一般适合检测血红蛋白含量较高的尿液样本,正常尿样由于血红蛋白含量过低可能不适用于本试剂盒。尿液可以放置10-15分钟后,直接测定。

2. 标准品的准备:

自备蒸馏水或生理盐水,用于稀释试剂盒提供的100mg/dl血红蛋白标准品至标准曲线所需浓度。初次检测时可以设置0、1.25、2.5、5、10、20、40、80mg/dl的血红蛋白标准曲线。待确定样品的血红蛋白浓度范围后,可以根据情况自行选择适当浓度范围的血红蛋白标准曲线。

3. 样品和标准品的检测:

- a. 取5 μ l标准品或样品(5-10 μ l)于洁净的1.5ml离心管中。注:如果检测的样品是组织匀浆液则需加入10 μ l的量进行检测。
- b. 用蒸馏水将适量的过氧化氢溶液(30X)稀释成1X的过氧化氢溶液。稀释的过氧化氢很不稳定,请在使用前稀释至1X。
- c. 加入显色试剂200 μ l,再加入20 μ l过氧化氢溶液(1X)。
- d. 充分混合后,室温(25°C)反应30-90分钟(若样品中血红蛋白浓度相对较高,则孵育30分钟即可;若样品中血红蛋白浓度较低可以适当增加反应时间,但注意反应不宜超过90分钟),1500g离心5分钟。
- e. 每管吸出200 μ l上清液至一洁净的96孔板中。转移液体时注意避免产生气泡。也可酌情每管吸出100-200 μ l至96孔板中。
- f. 410nm测定吸光度(也可检测405-415nm)。为获得较理想的检测结果,吸光度测定宜在反应结束后20分钟内完成。
- g. 根据标准曲线计算出样品中血红蛋白浓度。血红蛋白标准曲线参考图2(血红蛋白的分子量约为64.5kd,1mg/dl约为0.156 μ M)。

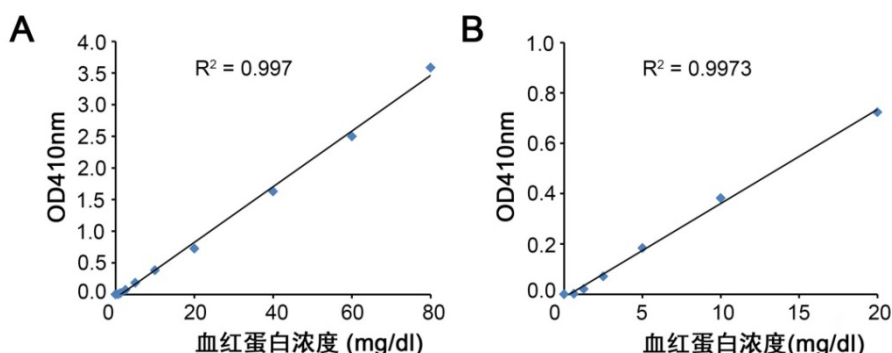


图2. 碧云天生产的血红蛋白检测试剂盒(显色法)检测血红蛋白的标准曲线参考图。图A、B为5 μ l标准品+200 μ l显色试剂反应体系时,血红蛋白浓度范围分别为0-80mg/dl和0-20mg/dl的标准曲线图。实测数据会因检测仪器、孵育时间等的不同而存在差异,图中数据仅供参考。

- h. 如果样品检测出来的吸光度值高于检测上限值,则需适当稀释样品后,再进行检测;如果样本中血红蛋白浓度过低,请把样品的体积适当加大并延长反应时间至90分钟,如果获得的检测数据仍然不在标准曲线的范围内,则说明该样品不适合使用本试剂盒进行检测。