

## 血红蛋白检测试剂盒 (微板法 )

### 简介:

血红蛋白 (Hemoglobin , Hb 或 HGB) 是高等生物体内负责运载氧的一种蛋白质, 是能使血液呈红色的蛋白。血红蛋白由四条链组成, 两条 $\alpha$ 链和两条 $\beta$ 链, 每一条链有一个包含一个铁原子的环状血红素。

Hb 在氧含量高的区域, 容易与氧结合; 在氧含量低的区域, 又容易与氧分离。血红蛋白的这一特性, 使红细胞具有运输氧的功能。

BIOISCO 血红蛋白检测试剂盒 (微板法 ) (Hemoglobin Colorimetric Assay Kit) 其检测原理是血红蛋白中亚铁血红素有类似过氧化物酶的作用, 可在氧化剂的作用下催化显色底物, 在酸性条件下产物呈红色, 吸收峰, 产物红色越深, 说明 Hb 含量越高, 反之则越低, 通过酶标仪测定处吸光度, 据此通过比色分析就可以计算出血清血红蛋白含量水平。该试剂盒主要用于检测溶血血清样本, 亦可用于检测细胞或组织的裂解液或匀浆液等中血红蛋白含量。该试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

### 组成:

产品名称	KB031-100T	Storage
试剂 (A): Hb Assay buffer	5ml	-20°C 避光
试剂 (B): 显色底物	2x100 $\mu$ l	-20°C
试剂 (C): Acid Assay buffer	17ml	RT
试剂 (D): Hb(1mg/ml)	50 $\mu$ l	-20°C 避光
试剂 (E): ddH <sub>2</sub> O	1ml	RT
说明书	1 份	

### 存储条件:

按要求保存, 半年有效。

### 自备材料:

生理盐水、96 孔板、水浴锅或恒温箱、酶标仪

### 操作步骤 (仅供参考) :

#### 1、 配制检测工作液:

①配制标准品工作液: 取出 Hb(1mg/ml)恢复至室温, 准确取, 加入 ddH<sub>2</sub>O, 即为标准品工作液 (13.2  $\mu$ g/ml)。



②配制显色工作液：取 Hb Assay buffer 恢复至室温，取 20 $\mu$ l 显色底物溶解于 2ml Hb Assay buffer，即为显色工作液。配制好的显色工作液-20 $^{\circ}$ C保存，一般一天内用完。

## 2、准备样品：

①溶血标本血清：溶血血清按照常规方法制备后，-20 $^{\circ}$ C冻存。使用时用生理盐水稀释。

②细胞或组织样品：取恰当的细胞或组织裂解液，如果有必要需进行适当匀浆，低速离心取上清，20 $^{\circ}$ C冻存。

3、**Hb 加样**：按照下表设置 96 孔板空白孔、标准孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的血红蛋白含量过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。样品的检测最好能设置平行孔，尤其是标准品应作三复孔。

加入物( $\mu$ l)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH <sub>2</sub> O	8	—	—
标准品工作液	—	8	—
待测样品	—	—	8
显色工作液	40	40	40
轻轻混匀，37 $^{\circ}$ C恒温准确孵育 10min			
Acid Assay buffer	160	160	160

4、**酶标仪检测**：530nm 处吸光度即 A<sub>530</sub>，如果无法检测，亦可检测吸光度，一般应数小时内检测完毕。

### 计算结果：

血清血红蛋白 (mg/L)= 待测样品吸光度 / 标准品吸光度  $\times$  13.2  $\times$  100(mg/L)

### 注意事项：

1、Hb(1mg/ml)和标准品工作液 (13.2  $\mu$ g/ml)均应 -20 $^{\circ}$ C保存，同时应避免反复冻融。

2、如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但应考虑根据比色杯的最小检测体积，尽量采用小体积的比色杯。

3、1 支显色工作液配制后应尽快用完，因此请注意适当多准备一些样品一起检测。

