**肝素钠检测试剂盒(天青 A 微板法)说明书**

**产品简介：**

肝素钠是一种黏多糖，在多糖链上带有很多阴离子基团如磺酸基、羧基等，因此肝素具有强负电性，能与阳离子或带正电荷的分子结合，形成复合物。天青 A 是一种碱性燃料，其正电荷与肝素的阴离子结合，生成肝素-天青 A 复合物。

肝素钠检测试剂盒(天青 A 微板法)检测原理是肝素阴离子与天青 A 阳离子结合，形成肝素-天青 A 复合物，并能表现因光异色现象，即产生一种颜色反应，该反应程度与肝素的

结合量具有一定比例关系，通过酶标仪在 505nm 处测定吸光度，在碱性条件下，肝素浓度与吸光度符合郎伯-比耳定律，通过检查标准曲线，获得肝素(钠)的效价浓度。本试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

**产品组成：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  编号名称 | RC21759100T | Storage |
| 试剂(A): 肝素标准(2500U) | 2 支 | 4℃ |
| 试剂(B): Heparin Assay Buffer  | 6ml  | 4℃ |
| 试剂(C): 天青显色液 | 1ml  | 4℃ 避光 |
| 使用说明书  | 1 份 |

**自备材料：**

1、蒸馏水

2、离心管或试管

3、酶标仪

**操作步骤** (仅供参考) **：**

 1、配制系列标准品：取肝素标准(2500U)1 支准确加入 10ml 蒸馏水，充分混匀，即为肝

素标准储存液(250U/ml)，-20℃保存，3 个月有效。按肝素标准储存液(250U/ml)：蒸

馏水=1：124 的比例混合，即得肝素标准(2U/ml)。取干净离心管或试管，按下表进行

操作，如有条件可做 2-3 次重复，求平均值：

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 加入物(ml)  | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 肝素标准(2U/ml)  | 0.1  | 0.2  | 0.4 | 0.5  | 1 | 2 |
| 蒸馏水  | 1.9  | 1.8  | 1.6  | 1.5  | 1 | 0 |
| 相当于肝素标准单位数(U)  | 0.2 | 0.4  | 0.8  | 1 | 2 | 4 |

2、配制天青显色工作液：取适量的天青显色液，按天青显色液：蒸馏水=1：5 的比例混合，

即为天青显色工作液，最好现配现用。4℃避光保存，1 周有效。

3、肝素钠加样：准确称取一定量的待测肝素钠样品，用蒸馏水溶解成 1mg/ml 的溶液。测

定之前，准确稀释成 10μg/ml 待测液，按下表进行操作。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 加入物(μl) | 空白孔 |  |  |
| 蒸馏水 | 200 | - | - |
| 系列肝素标准(1-5 号) | - | 200 | - |
| 肝素钠待测液 | - | - | 200 |
| Heparin Assay Buffer | 50 | 50 | 50 |
| 天青显色工作液 | 50 | 50 | 50 |

1. 肝素钠测定：混匀，以空白孔调零，酶标仪测定 505nm 处吸光度。

**计算：**

以效价(U)为横坐标，吸光度为纵坐标作图得标准曲线，根据肝素钠待测液的吸光度在

标准曲线上查出相应的单位数(U)。

 肝素钠样品的效价(U/mg)=(P×V)/(m×V i )

式中：P=根据待测样品的吸光度在标准曲线上查出的单位数(U)

V=待测样品的总体积(ml)

V i =测定时用的样品体积(ml)

m=样品的质量(mg)

**注意事项：**

1、 上述低温试剂避免反复冻融，以免失效或效率下降。

2、 待测肝素钠溶液样品如不能及时测定，应置于 2~8℃保存，3 天内稳定。

3、 如果样品浓度过高，应用蒸馏水稀释后重测，结果乘以稀释倍数。

**有效期：** 6 个月有效。

**附录：** 参考标准曲线范围： 测定肝素钠标准在 0.2~4U 时，通过分光光度计测定

(已调零)其吸光度多在 0.02~0.5 之间。测定肝素标准在 0.2、0.4、0.6、0.8、1、

2、4U 时吸光度，据此作出其标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算肝素钠含量的，可以采用多点标准曲线重复测定；根据测定经验显示，标准品效价在 0.2~0.3U/ml 以下，标准品浓度在 4U/ml 以上，标准曲线会有偏差。