



血红蛋白检测试剂盒(微板法)说明书

产品简介：

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 α 链和两条 β 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。

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。

产品组成：

名称	编号	RC22222	Storage
		100T	
试剂 (A): Hb Assay buffer		5ml	-20 °C 避光
试剂 (B): 显色底物		100 μ l	RT
试剂 (C): Acid Assay buffer		17ml	RT
试剂 (D): Hb (1mg/ml)		50 μ l	-20 °C 避光
试剂 (E): ddH ₂ O		1ml	RT
说明书		1份	

自备材料：

- 1、生理盐水
- 2、96 孔板
- 3、水浴锅或恒温箱
- 4、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：取出试剂(D) Hb (1mg/ml) 恢复至室温, 准确取, 加入 ddH₂O (试剂E), 稀释倍数1000/13.2, 即为标准品工作液 (13.2 μ g/ml)。



② 配制显色工作液: 取试剂(A)Hb Assay buffer 至恢复至室温, 取20ul显色底物(试剂B)溶解于 2ml Hb Assay buffer ,即为显色工作液。配制好的显色工作液-20℃保存, 一般1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 ℃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 ℃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 (μl)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH ₂ 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 ℃恒温准确孵育 10min 。			
Acid Assay buffer (试剂C)	160	160	160

4、 酶标仪检测 530nm 处吸光度即 A₅₃₀ , 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:

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

注意事项:

1、 Hb(1mg/ml) 和标准品工作液 (13.2 μg/ml) 均应 -20 ℃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。

有效期: 6 个月有效。