# 游离血红蛋白检测试剂盒(邻联甲苯胺比色法)

## 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，血管溶血时血浆游离血红蛋白(free hemoglobin)浓度增高。

游离血红蛋白检测试剂盒(邻联甲苯胺比色法)(Free Hemoglobin Colorimetric Assay Kit)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邻联甲苯胺(O-tolidine)产生青色或蓝色产物，吸收峰在 630nm；在酸性条件下产物呈黄色，吸收峰在 435nm，产物黄色越深，说明 FHB 含量越高，反之越低；通过分光光度比色法测定 435nm 处吸光度，就可计算出血浆游离血红蛋白含量，主要用于血浆样本，亦可用于测定细胞或组织的裂解液或匀浆液等样品中游离血红蛋白含量。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

## 产品组成:

| 编号 / 名称 | GCTC0201 50T | GCTC0201 100T | Storage |
|---|---|---|---|
| 试剂(A): O-tolidine Solution | 10ml | 20ml | 4℃ 避光 |
| 试剂(B): 氧化剂 | 10ml | 20ml | 4℃ 避光 |
| 试剂(C): Acid Assay Buffer | 50ml | 100ml | RT |
| 试剂(D): Hb(1mg/ml) | 0.5ml | 0.5ml | 4℃ 避光 |
| 使用说明书 | | 1 份 | |

## 自备材料:

1、 96 孔板、酶标仪或分光光度计

2、 生理盐水或蒸馏水

## 操作步骤(仅供参考):

1、准备样品:

①血浆、尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于该试剂盒的测定，尿液通常也可以直接用于测定，获得的样品-20℃冻存备用。

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，获得的样品-20℃冻存备用。

2、配制 Hb 标准品工作液：取 Hb(1mg/ml) 10μl 加入 90μl 生理盐水，即为标准品工作液(100μg/ml)。

3、FHB 加样：取 96 孔板或 EP 管，按照下表设置空白孔/管、标准孔/管、测定孔/管，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低，可以增加各管用量(0.02 增加到 0.1 或其他用量，保证各管体积一致即可)；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/管，尤其是标准品应作 3 复孔/管。

| 加入物(ml) | 空白孔/管 | 标准孔/管 | 测定孔/管 |
|---|---|---|---|
| 生理盐水 | 0.02 | — | — |
| Hb 标准品工作液 | — | 0.02 | — |
| 待测样品 | — | — | 0.02 |
| O-tolidine Solution | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 氧化剂 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 充分混匀，室温放置 10min。 | | | |
| Acid Assay Buffer | 1 | 1 | 1 |
| 蒸馏水 | 1 | 1 | 1 |

4、FHB 测定：空白调零，以分光光度计测定 435nm 处标准孔/管和测定孔/管的吸光度，如果无法检测 435nm，亦可检测 425～450nm 范围内吸光度。

**计算结果：**

血浆游离血红蛋白(mg/L)=测定吸光度/标准吸光度×100(mg/L)，一般＜40mg/ml

**注意事项：**

1、 Hb(1mg/ml)为市售的牛血红蛋白与生理盐水配制而成的，未用 HiCN 标定其浓度，可能有一定误差，有特殊需求的可以自备相关标准品。

2、 Hb(1mg/ml)和标准品工作液(100μg/ml)均应 4℃保存，同时应避免污染。

3、 也可用酶标仪测定，但应根据酶标仪的最大检测体积进行调整。

4、 本反应比较快，加入 Acid Assay Buffer 和蒸馏水后应立即检测，一般 30min 内颜色变化不大，但应保证不同批次实验用相同的检测时间。

5、 O-tolidine Solution 和 Acid Assay Buffer 有一定腐蚀性，请小心操作，避免直接接触身体。

6、 氧化剂含有少量的过氧化氢，使用后应及时拧紧瓶盖，如果反应不变化，可考虑重新配制本氧化剂溶液(0.05%水溶液即可)。

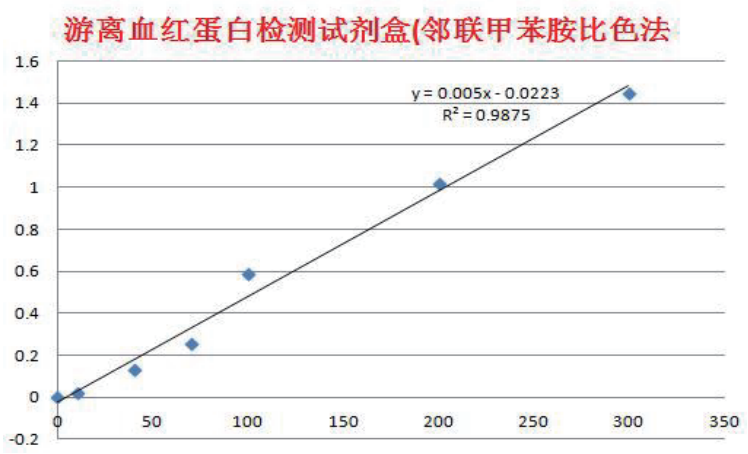
7、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

8、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

**有效期：**6 个月有效。低温运输，按要求保存。

**附录：**标准曲线制作：Leagene 在室温条件下按说明书操作，对系列标准进行吸光度的测定，其数值及标准曲线如下(仅供参考)：

| Hb 标准(μg/ml) | 10 | 40 | 70 | 100 | 200 | 300 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 吸光度 | 0.02 | 0.13 | 0.254 | 0.587 | 1.021 | 1.445 |




**相关产品：**

| 产品编号 | 产品名称 |
|---|---|
| GCCZ0030 | 生理盐水(1×NS,无菌) |
| GCDA0082 | 巴氏染色液(Papanicolaou EA50) |
| GCDC0032 | Masson 三色染色液 |
| GCIH0090 | 多聚赖氨酸溶液(1×PLL,0.1mg/ml) |
| GCPS0013 | RIPA 裂解液(强) |
| GCTO1013 | 丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法) |